UNIVERSITÉ DE STRASBOURG — FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1968-1969 — N° 853

DE L'INTÉRÊT DE LA RECHERCHE DES PRÉCIPITINES ANTI-ASPERGILLUS FUMIGATUS DANS LES SÉRUMS DE MALADES SUSPECTS D'ASPERGILLOSE

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 20 Décembre 1968

devant la

FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG

pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention : PHARMACIE)

par

MARIE-LOUISE NORTH
Pharmacien

Diplômée d'études spéciales de Sérologie de la Faculté de Pharmacie
Diplômée d'études spéciales d'Hématologie de la Faculté de Médecine
Certifiée de Chimie Biologique, de Microbiologie et de Biologie Générale de la Faculté des Sciences

---

Examinateurs de la Thèse — Juges

MM. René SARTORY, Professeur, Président
Michel HASSELMANN, Professeur
Jacques MALGRAS, Professeur
Robert WAITZ, Professeur

1968

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1968-1969 N° 853

DE L'INTÉRÊT DE LA RECHERCHE DES PRÉCIPITINES ANTI-ASPERGILLUS FUMIGATUS DANS LES SÉRUMS DE MALADES SUSPECTS D'ASPERGILLOSE

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 20 Décembre 1968

devant la

FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG

pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention : PHARMACIE)

par

MARIE-LOUISE NORTH
Pharmacien

Diplômée d'études spéciales de Sérologie de la Faculté de Pharmacie
Diplômée d'études spéciales d'Hématologie de la Faculté de Médecine
Certifiée de Chimie Biologique, de Microbiologie et de Biologie Générale de la Faculté des Sciences

---

Examinateurs de la Thèse — Juges

MM. René SARTORY, Professeur, Président
Michel HASSELMANN, Professeur
Jacques MALGRAS, Professeur
Robert WAITZ, Professeur

1968

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

FACULTÉ DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

Doyen : M. M.HASSELMANN.

Doyen honoraire : M. P.DUQUÉNOIS.

Assesseur : M. J.SCHREIBER.

Professeurs :

MM.	R.SARTORY	Bactériologie et Cryptogamie
	P.CORDIER	Pharmacie chimique
	P.DUQUÉNOIS	Matière médicale et Hydrologie
	P.JAEGER	Botanique
	G.GAZET DU CHATELIER	Pharmacie galénique
	M.HASSELMANN	Chimie analytique et Toxicologie
	J.SCHREIBER	Chimie organique
	P.MÉTAIS	Chimie biologique
	G.LAUSTRIAT	Physique et Mathématiques
	J.Cl.STOCLET	Pharmacodynamie

Professeurs honoraires : MM. Ch.LAPP - J.P.EBEL.

Professeurs sans chaire :

MM.	A.LEDOUX	Zoologie
	J.MALGRAS	Hygiène
	G.DIRHEIMER	Sciences appliquées

Maîtres de conférences :

MM.	Ch.F.LAPP	Sciences physico-chimiques
	L.JUNG	Physique
	C.MATHIS	Pharmacie galénique
	A.STAHL	Biochimie pharm. et technique

Maître de conférences honoraire : M. E.COLLARD.

Cours complémentaires :

MM.	BOEGLIN	Gestion et Comptabilité pharm.
	GREGOIRE	Législation pharmaceutique

Chefs de travaux pratiques :

Mme	M.KRISTENSEN-REH	Chimie
Mme	N.OURISSON-HEILIGENSTEIN	Physiologie végétale
MM.	Ch.ROMOND	Bactériologie
	P.LAUGEL	Chimie
Mme	D.WENCKER-SCHAELDERLÉ	Physique et Mathématiques
M.	C.G.WERMUTH	Chimie
Mlle	C.ASSENMACHER (délégué dans les fonctions)	Chimie
MM.	R.ANTON. . . (" " " ")	Essais de médicaments
	J.J.BEFORT . . (" " " ")	Anatomie et Histologie
	Y.CHAMBRON . . (" " " ")	Chimie biologique
	D.GÉRARD . . . (" " " ")	Physique
	B.HORB . . . . (" " " ")	Parasitologie et Histologie
	H.LAMI . . . . (" " " ")	Physique
	J.SAMSEL . . . (" " " ")	Biologie animale
	J.P.SCHMITT. . (" " " ")	Pharmacie galénique

DE L'INTERET DE LA RECHERCHE DES PRECIPITINES ANTI-ASPERGILLUS FUMIGATUS DANS LES SERUMS DE MALADES SUSPECTS D'ASPERGILLOSE

A MES PARENTS,

En témoignage de ma reconnaissance et de mon affection.

A MES FRERES.

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR René SARTORY

Professeur de Bactériologie et de Cryptogamie
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Qui a bien voulu accepter de juger ce travail et de présider notre jury.

Nous le prions de trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR Michel HASSELMANN

Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Professeur de Chimie analytique et Toxicologie

Qui nous a fait l'honneur d'être membre de notre jury.

Nous le prions de trouver ici l'expression de notre gratitude pour l'attention bienveillante qu'il nous a toujours accordée.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR Jacques MALGRAS

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Directeur-Adjoint du Centre de Transfusion Sanguine de Strasbourg

Qui a inspiré et guidé ce travail. Nous le remercions des conseils et des encouragements qu'il n'a cessé de nous prodiguer.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre vive reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR Robert WAITZ

Professeur d'Hématologie
à la Faculté de Médecine de Strasbourg

Médecin-Chef de la Clinique des Maladies du Sang

Directeur du Centre de Transfusion Sanguine
et de Dessiccation du Plasma de Strasbourg

Membre Correspondant de l'Académie de Médecine

Nous sommes très sensible au grand honneur qu'il nous a fait en acceptant d'être membre de notre jury.

Il nous a accueillie avec bienveillance dans son équipe de travail. Nous lui sommes reconnaissante de la confiance qu'il nous a toujours accordée. Son expérience, son enseignement empreint d'une grande humanité, ses conseils avisés, sont pour nous un constant encouragement.

Qu'il veuille trouver ici l'hommage de notre gratitude et de notre admiration.

A Monsieur le Professeur G. M A Y E R
et à Madame le Professeur Agrégé S. M A Y E R

A Monsieur le Professeur P. O U D E T
et à Monsieur le Professeur Agrégé E. R O E G E L

A Monsieur le Professeur G. B U R G H A R D T

de la Faculté de Médecine de Strasbourg

A Monsieur le Professeur J. B I G U E T,

à Mademoiselle S.ANDRIEU,

à Monsieur P.TRAN VAN KY,

à Mademoiselle J.FRUIT

de la Faculté de Médecine et de Pharmacie
de Lille

Nous les remercions de l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à notre travail. Sans leur aide aimable et concours, ce travail eut été impossible.

En témoignage de notre respectueuse amitié.

A TOUS NOS COLLEGUES du Centre de Transfusion Sanguine de Strasbourg.

A NOS AMIS de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.

A Madame Francine HEYL,

A Mademoiselle Michèle GERBER,

A Madame G.RIXENS,

Avec nos sincères remerciements pour leur aimable collaboration technique dans la réalisation de ce travail.

P L A N

- INTRODUCTION.

PREMIERE PARTIE

- Historique.
- Caractères mycologiques de l'agent pathogène.
- Etio-pathogénie de l'affection.
- Les Aspergilloses.

DEUXIEME PARTIE

- Rappel de quelques notions d'immunologie.
- Description des méthodes utilisées.
- Analyse des résultats obtenus par ces méthodes.

TROISIEME PARTIE

- Résultats personnels.
- Interprétation des résultats personnels.
- Etude détaillée des cas d'Aspergillome.

- CONCLUSION.

- BIBLIOGRAPHIE.

I N T R O D U C T I O N

Considérée autrefois comme une curiosité, l'Aspergillose est aujourd'hui relativement fréquente. Cette maladie est la première affection mycosique à avoir été décrite, en 1856 par l'histologiste VIRCHOW, qui créa le terme de "mycose" à cette occasion. Par la suite, son existence a été très controversée et le rôle pathogène des champignons responsables, les Aspergillus, très contesté.

Ces dix dernières années, les mycoses pulmonaires et les Aspergilloses pulmonaires en particulier, ont connu un regain d'actualité.

Cette actualité est liée à l'augmentation de la fréquence des mycoses, due en partie au rôle toujours plus grand joué par certains facteurs favorisants. Les antibiotiques, en particulier, sont accusés de prendre une part très importante dans le déterminisme de ces infections, tant par leur action prolifératrice directe, que par le déséquilibre microbien et parasitaire qu'ils entraînent.

L'intérêt croissant porté à l'Aspergillose est essentiellement lié à la mise au point de nouvelles techniques biologiques de diagnostic. Depuis 1962, les travaux de PEPYS et LONGBOTTOM en Angleterre, de DROUHET et SEGRETAIN à Paris, et surtout les perfectionnements apportés par l'Ecole Lilloise dirigée par le Professeur BIGUET, ont rendu le diagnostic immunologique de l'Aspergillose, aisé. Ces techniques sont basées sur la recherche de précipitines dans le sérum de malades suspects d'Aspergillose. Ces précipitines sont les témoins de la réaction immunologique provoquée par la colonisation de l'organisme humain par le champignon responsable : le plus souvent Aspergillus fumigatus.

Cette recherche immunologique, par la grande spécificité de ses résultats, permet d'établir le diagnostic d'Aspergillose avec une certitude beaucoup plus grande que les cultures ou les tests cutanés, même en l'absence de signes cliniques ou radiologiques.

Sur les conseils de Monsieur le Professeur WAITZ, de Madame le Professeur MAYER et de Monsieur le Professeur BURGHARDT, nous nous intéressons depuis 2 ans à la recherche de ces protéines sériques anormales. L'équipement moderne des laboratoires du Centre de Transfusion Sanguine, dirigés par Monsieur le Professeur WAITZ, et l'aide aimable de nos collègues du Service de Bactériologie de la Faculté de Pharmacie, dirigé par Monsieur

le Professeur SARTORY, nous ont permis de mettre rapidement les techniques au point. Nous devons à la collaboration des médecins de la Clinique Pneumo-phtisiologique, dirigée par Monsieur le Professeur OUDET et à ceux de l'Hôpital Sanatorium St.François, dirigé par Monsieur le Professeur BURGHARDT, d'avoir pu étudier 120 sérums de malades suspects d'Aspergillose.

L'étude de ces sérums fera l'objet de ce travail. Celui-ci se divisera en trois parties. Dans la première partie, nous ferons un bref rappel bibliographique, dans la deuxième, nous décrirons et étudierons les techniques immunologiques utilisées, dans la troisième enfin, nous résumerons les observations cliniques des cas d'Aspergillome (forme localisée des Aspergilloses pulmonaires) que nous avons rencontrés et dont nous commenterons les résultats.

PREMIERE PARTIE

HISTORIQUE

REAUMUR, en 1746, décrit pour la première fois la présence de champignons dans un organisme vivant et signale leur existence dans des oeufs en incubation. Ces champignons peuvent être pathogènes pour l'homme et être à l'origine de mycoses.

Les Aspergillacées provoquent des manifestations pathologiques au niveau de la sphère respiratoire. Cette mycose interne est connue sous le nom d'Aspergillose broncho-pulmonaire.

L'historique de l'Aspergillose pulmonaire peut se subdiviser en trois étapes :

- étape anatomo clinique
- étape radiologique
- étape biologique

ETAPE ANATOMO-CLINIQUE :

C'est celle de la découverte du parasite. Elle permet d'établir la relation de cause à effet, entre l'agent pathogène et les divers troubles cliniques observés.

Les premières observations ont été faites sur les animaux.

MAYER dès 1815 décrit un thalle parasite dans les poumons d'un geai. Des moisissures vertes sont découvertes dans les cavités aériennes de nombreux oiseaux :

- chez un cygne par JAEGER en 1816,
- chez une cigogne par HEUSINGER en 1826,
- chez un corbeau par THEILE en 1827,
- chez un flamant par OWEN en 1833.

Des affections mycosiques sont également observées chez les mammifères. En 1841, ROUSSEAU et SERRURIER isolent des moisissures vertes dans les bronches d'un cerf du Bengale et LAGENBECK chez le cheval; en 1876 PECH et ZURN les retrouvent chez la vache.

Ces parasites sont des moisissures du genre ASPERGILLUS (MICHELI, 1729).

Les premières observations de mycoses pulmonaires humaines semblent être celles de RAYER et MONTAGNE, en 1842. La même année, BENNET découvre, lors d'une autopsie, la présence de ces champignons dans les cavernes d'un tuberculeux. VIRCHOW (98), en 1856, perçoit le premier, son originalité clinique quand il écrit : "Quatre fois j'ai eu l'occasion d'observer l'envahissement des organes respiratoires par un Aspergillus qui me paraît être le même dans tous les cas. Je nommerai donc la maladie :

"BRONCHO et PNEUMOMYCOSE ASPERGILLINA . C'est une maladie bien spéciale".

FRESENIUS, en 1863, isole le parasite dans les poumons d'une oie outarde. Il étudie cette espèce mycélienne et lui donne le nom d'ASPERGILLUS FUMIGATUS.

Le champignon étant connu, plusieurs cas d'Aspergillose pulmonaire sont rapportés entre 1875 et 1890.

En 1890, DIEULAFOY, CHANTEMESSE et WIDAL (25) rapportent, au congrès de Berlin, l'observation de 3 gaveurs de pigeons "qui présentaient la même maladie chronique du poumon et dont l'évolution était celle de la tuberculose classique". L'agent responsable est l'Aspergillus fumigatus qui siège à la surface des graines. Ce sont les premiers cas décrits du vivant des malades. Le diagnostic est confirmé par l'ensemencement de leurs crachats sur gélose et par leur inoculation dans les veines d'un pigeon.

Ce travail est repris en 1893 par RENON qui y consacre sa thèse (82). Il confirme la fréquence de l'affection chez les gaveurs de pigeons et les peigneurs de cheveux. Il la dénomme : PSEUDO-TUBERCULOSE ASPERGILLAIRE.

En 1897, dans son "Etude sur l'Aspergillose chez les animaux et chez l'homme" (83), constatant l'éventuelle possibilité d'une association avec la tuberculose elle-même, il distingue :

- une pseudo tuberculose aspergillaire simple,
- une pseudo tuberculose secondaire à une affection antérieure,
- une pseudo tuberculose compliquée de tuberculose à bacille de Koch.

Il est le premier à introduire la distinction entre la forme primitive et secondaire de la maladie.

Durant les quarante années suivantes, les publications sur l'Aspergillose se font plus rares et portent essentiellement sur la description et la biologie du champignon. On peut citer surtout : Les "MYCOSES PULMONAIRES" par A.SARTORY et A.BAILLY (87) en 1923.

DEVÉ, en 1938, inaugure par ses travaux (24) la seconde étape qui est une étape radiologique.

ETAPE RADIOLOGIQUE :

DEVÉ dépeint une forme pseudo-tumorale pouvant siéger soit dans une cavité bronchique, soit dans une cavité pulmonaire. Il la nomme "MEGAMYCETOME INTRA-BRONCHECTASIQUE". Elle se traduit

cliniquement par des hémoptysies, et radiologiquement par "une opacité uniforme, peu dense, arrondie, surmontée d'un croissant clair très mince qui l'entoure sur les 3/4 supérieurs". C'est la classique "image en grelot".

MONOD, PESLE et SEGRETAIN (63), en 1951, lui préfèrent la dénomination d'"ASPERGILLOME BRONCHECTASIANT" qui traduit le caractère primitif de l'affection admis par les auteurs. Ils affirment pour la première fois sa curabilité par intervention chirurgicale lorsque l'état du malade le permet.

Depuis 1952, très peu de cas primitifs par rapport aux cas secondaires sont décrits et certains auteurs (RODRIGUEZ (85)) vont jusqu'à nier l'existence de formes primitives. Enfin, grâce aux examens de dépistage plus systématiques, on note l'apparition de nombreuses formes cliniques de symptomatologie très différente de la forme classique.

ETAPE BIOLOGIQUE :

RENON avait déjà recherché l'existence de toxines capables d'immuniser les animaux.

MACAIGNE et NICAUD (56) envisageaient dès 1927 la possibilité de réaction antigéniques.

HENRICI (42), en 1939, extrait du champignon une endotoxine léthale pour la souris et hémolytique pour l'homme. Cette toxine serait susceptible d'entretenir un certain état d'allergie et de faire apparaître des anticorps circulants.

Les travaux de PEPYS et LONGBOTTOM en Angleterre en 1962, (55, 69, 70, 71, 72, 73) confirment ces données. Par la technique d'OUCHTERLONY et par l'analyse immunoélectrophorétique, ils mettent en évidence des précipitines sériques chez des malades sensibilisés à diverses moisissures.

A la même époque et parallèlement aux travaux de l'école anglaise, DROUHET, SEGRETAIN et PESLE (29) effectuent à l'Institut Pasteur de Paris leurs recherches en milieu gélosé. A la Faculté de Médecine de Lille : BIGUET, GERNEZ-RIEUX, VOISIN (36, 37, 99,,100), combinent à cette technique la pratique de l'immunoélectrophorèse et mettent au point une méthode de recherche immunologique des précipitines sériques anti aspergillaires.

Ces techniques biologiques, confrontées aux données cliniques et radiologiques permettent depuis 1964 de poser avec certitude le diagnostic de l'affection.

CARACTERES MYCOLOGIQUES DE L'AGENT PATHOGENE

L'agent pathogène de l'Aspergillose pulmonaire a été étudié pour la première fois en 1863 par FRESENIUS. Il a nommé l'espèce mycélienne isolée dans les poumons d'une oie outarde : Aspergillus fumigatus.

Depuis, de nombreux travaux et en particulier ceux de RENON (82), ont établi le rôle pathogène de ces champignons microscopiques.

CLASSIFICATION :

Comme tous les champignons, les Aspergillées sont des végétaux inférieurs qui ne possèdent pas de chlorophylle. Ils ne peuvent donc synthétiser les substances fondamentales et vivent soit en saprophytes en se nourrissant de matières en décomposition, soit en parasites en se développant sur des organismes vivants.

Ils sont constitués d'un mycélium ou thalle d'où leur nom de THALLOPHYTES. La structure de leur thalle ainsi que leur mode de reproduction ont permis de les classer :

- dans la classe des ASCOMYCETES,
- dans l'ordre des PLECTASCINEES,
- dans la famille des ASPERGILLACEES,
- dans le genre ASPERGILLUS

(d'après THOM et RAPER (92)).

Les ASCOMYCETES ont un thalle très différencié, un mycélium cloisonné et ramifié.

Leur reproduction est :

- soit sexuée : les spores proviennent d'une division préalable de l'oeuf et sont retenues captives dans un réceptacle appelé : ASQUE (du grec ASKOS : outre);

- soit végétative par fructification conidienne.

L'Aspergillus fumigatus suit ce mode de reproduction et entre dans l'ordre des PLECTASCINEES. Du mycélium émergent des conidiophores, épaissis en massifs réguliers à leur extrémité. Ils portent des stérigmates ou phialides, disposés dans le prolongement de la sphère terminale.

Dans la famille des ASPERGILLACEES, qui groupe les genres ASPERGILLUS et PENICILLIUM, les phialides portent des conidies. Ces conidies sont du type sériospores, c'est-à-dire disposées en files à l'extrémité des phialides.

Le genre ASPERGILLUS nommé ainsi par MICHELI en 1729, se différencie des penicillium par la forme "en pilon" (SARTORY et BAILLY (87)) des conidiophores. On a dénombré une soixantaine d'espèces d'Aspergillus qui se distinguent par leur morphologie. L'aspergillus fumigatus est le plus fréquemment rencontré en pathologie humaine.

CARACTERES MORPHOLOGIQUES D'ASPERGILLUS FUMIGATUS :

L'Aspergillus est formé de deux parties (cf. fig. n° 1)

- le mycélium ou thalle, formé d'une masse de filaments tubulaires et segmentés en "canne de bambou". Les filaments ou hyphes sont des tubes sinueux de 2 à 3 µ , limités par une membrane et visibles au microscope à l'objectif à sec. Ces filaments se terminent en rameaux et à l'extrémité de ces rameaux se trouvent les conidiophores renflés "en pilon".

- les conidiophores ou organes de fructification : Ils sont les supports de plusieurs phialides ou stérigmates elliptiques, dressés les uns contre les autres, parallèles, en une seule série (ce qui différencie Aspergillus fumigatus, de Aspergillus nidulans : 2 séries) et fixés sur la partie supérieure de la vésicule. Chaque stérigmate donne naissance à une chaîne de conidies qui s'en détachent par simple désarticulation.

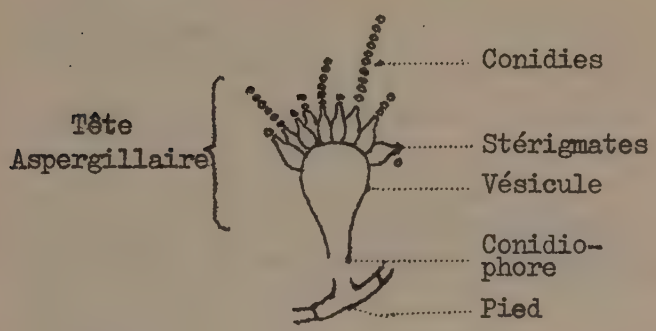


Figure 1

Sporulation d'Aspergillus fumigatus

Ces spores ou conidies disposées sur les organes de fructification en panache cylindrique, d'une longueur supérieure à 100 µ , sont rondes "globuleuses, échinulées, vertes" (SEGRETAIN, DROUHET et MARIAT (89)) et d'un diamètre de 2 à 4 µ (SARTORY et BAILLY (87)).

CARACTERES CULTURAUX :

L'Aspergillus fumigatus pousse en colonies filamenteuses plates en 24 à 48 heures à 37°C. La culture d'abord blanchâtre, vire au vert après 3 à 4 jours par production de spores. L'optimum cultural se place vers 37°C et le champignon ne pousse plus à 49°C (SARTORY et BAILLY (87)).

L'aspect macroscopique des colonies et les dimensions microscopiques du champignon varient suivant les milieux de culture. Les milieux les plus utilisés sont : la gélose glucosée

de Sabouraud, les milieux de Czapek ou de Raulin. Le milieu de Raulin a permis à SARTORY (87) d'isoler une variété d'Aspergillus fumigatus qu'il a nommée minimus. Dans cette variété le renflement sphéroïdal (tête) du champignon ne dépasse pas "20 à 25 µ au plus et cela d'une façon constante sur tous les milieux", en opposition avec Aspergillus fumigatus var. FRESENIUS: dont la tête mesure 35 à 40 µ .

En 1926, A. et R.SARTORY et J.MEYER, en traitant par le radium des cultures sur jus de carotte gélatiné (pH = 4,7) dissocié par le chlorure de sodium, ont obtenu des périthèces très particuliers dans lesquels se groupent sans ordre des asques ronds ou ovalaires à parois fines. Ces asques renferment chacun 8 ascospores elliptiques et à extrémités pointues. Les périthèces ainsi produits, ont une enveloppe formée de plusieurs épaisseurs d'articles disposés sans ordre et ne ressemblant pas aux formes parfaites du genre.

COLORATION :

Aspergillus fumigatus prend les colorants acides tels que la fuchsine, le P.A.S. et l'hématoxyline-éosine. Tous ces colorants et en particulier l'hématoxyline-éosine colorent les membranes des filaments fongiques.

PROPRIETES BIOLOGIQUES :

Ce sont des végétaux hétérotrophes incapables de photosynthèse et de chimiosynthèse. Ils vivent en saprophytes ou en parasites.

PROPRIETES DE FERMENTATION :

Ce champignon liquéfie lentement la gélatine, coagule le lait et dédouble le saccharose et le lactose (SARTORY et BAILLY (87)).

HABITAT :

Les céréales, les chaumes et les substances végétales en décomposition sont l'habitat d'élection de ce champignon saprophyte très répandu sur le sol. Les spores, qui sont sa forme de résistance, ont une très grande vitalité et peuvent se reproduire après plusieurs années d'attente en milieu non nutritif. Elles sont thermo-sensibles et tuées à 100°C. On les trouve surtout sur les graines (millet, seigle, avoine), les feuilles mortes, dans le sol. Elles sont très légères et se détachent facilement pour flotter dans l'air et devenir ainsi un agent contaminant très répandu (FRANKLAND et coll. (34) ; GUIBERT (41) ; SARTORY et coll. (87)).

PROPRIETES METABOLIQUES :

Plusieurs substances ont été isolées dans les milieux de cultures d'Aspergillus :

- des exotoxines semblant jouer un rôle dans les lésions pulmonaires;

- une endotoxine isolée par HENRICI en 1939 (42). Elle serait douée d'effets hémolytiques et nécrosants responsables des lésions vasculaires rencontrées au voisinage des Aspergillomes;

- des substances bactériostatiques (telles que la fumigatine) ainsi que bactéricides : telle que la fumigacine. Elles ont toutes une activité contre les germes gram + et - ;

- des produits doués d'une activité fibrinolytique importante. Leur action serait celle d'un enzyme d'activation du plasminogène, entraînant la fibrinolyse (BALGAIRIES et coll. (3), PESLE et coll. (77)). DYER et KADAR utilisent cette propriété dans l'étude de la fibrine (32).

POUVOIR PATHOGENE :

- Pouvoir pathogène expérimental :

Ce champignon est très pathogène pour le cobaye, le lapin, le singe ainsi que les oiseaux. Le pigeon semble le plus réceptif. (87). Par injection intraveineuse d'une suspension de spores dans l'oreille d'un lapin, on crée une septicémie hémorragique avec micro-abcès dans les reins hypertrophiés (90).

- Pouvoir pathogène humain :

Ce champignon habituellement saprophyte chez l'homme peut devenir pathogène. Sur les nombreuses espèces répertoriées, seules quelques unes sont responsables de mycoses humaines. La forme fumigatus vient en tête et est de loin la plus fréquente. Selon GERNEZ-RIEUX et coll. suivent : A. NIDULANS et A. GLAUCUS; selon COUDERT : A. NIGER; selon HINSON et coll. : A. FLAVUS, A. NIDULANS, A. VERSICOLOR (86).

La contamination se fait surtout par les spores, soit par voie aérienne, soit, mais plus rarement, par voie buccale, souvent par l'intermédiaire des fruits.

Les Aspergillus peuvent provoquer (DROUET et coll. (28)) :

- des maladies de l'appareil respiratoire, dues principalement à Aspergillus FUMIGATUS,
- des otomycoses dues plus fréquemment à Aspergillus NIGER,
- des kératites de la cornée,
- des infections généralisées.

ETIO-PATHOGENIE DE L'AFFECTION

L'Aspergillus fumigatus est un champignon saprophyte, très répandu dans la nature, et qui dans des circonstances exceptionnelles, peut devenir un agent d'affections sévères.

Son pouvoir pathogène s'exerce plus spécialement sur certaines espèces animales : oiseaux, lapins, etc... L'homme n'est que rarement atteint. Sa localisation préférentielle est pulmonaire, bien que tous les organes puissent être touchés. Il donne alors naissance à une affection connue sous le nom d'Aspergillose.

FREQUENCE :

Pendant très longtemps l'Aspergillose a été considérée comme une maladie rare. Sa fréquence a augmenté ces dernières années.

En 1963, POULET (79) ne cite que 200 cas dans le monde, alors que MONOD (64) en 1965 parle déjà de plus de 1.000 cas.

Un travail statistique fait au Pavillon Laennec de l'Hôpital Civil de Strasbourg par KOEHL (48) signale le dépistage de 26 malades de Novembre 1957 à Juillet 1967. Au cours de cette période, il note un accroissement global et constant, avec une augmentation de fréquence nette et régulière depuis 1964.

Un travail identique fait dans les services de pneumologie de la région du Nord de la France par Madame DEKEUWER-LAMBRE (21) rapporte 104 observations d'Aspergillose entre 1955 et 1967. Elle note 1 à 3 cas de 1955 à 1961, 5 cas en 1962 et 1963 et une brusque augmentation à partir de 1964 (26 cas). Depuis, on signale une vingtaine de cas par an, dans cette même région.

Ces constatations demandent quelques commentaires. Jusqu'en 1961 le diagnostic se fondait uniquement sur des signes cliniques et radiologiques. Il était éventuellement confirmé par l'examen mycologique des crachats ou des pièces d'exérèse.

Depuis 1962, la mise en évidence de précipitines sériques spécifiques de l'agent pathogène dans le sérum des malades par des techniques immunologiques, a permis de faire de très grands progrès et de révéler un grand nombre d'Aspergillosesrespiratoires passées inaperçues auparavant.

Cette brusque augmentation du nombre des cas depuis 1964 est liée à l'évolution des méthodes de diagnostic, mais également à une progression certaine de la maladie elle-même. Tous

les auteurs s'accordent à reconnaître le rôle de certains facteurs favorisants dans la recrudescence de l'Aspergillose.

ETIOLOGIE :

Les facteurs favorisants l'implantation humaine de cette affection mycosique sont nombreux.

La voie fondamentale de pénétration des Aspergillus dans l'organisme humain est constituée par les muqueuses, le plus souvent de l'arbre respiratoire et de ses annexes naso-sinusiennes. L'altération des muqueuses, la présence de cavités résiduelles détergées, de facteurs secondaires tel que l'âge, un état général déficient, sont des conditions favorables au développement "in vivo" du champignon parasite.

La muqueuse bronchique est la voie essentielle de pénétration. Les muqueuses conjonctivales, auriculaires, intestinales, vaginales ou vésicales ne le sont que très rarement.

D'après LAHOURCADE, la présence de mucus constitue un véritable milieu liquide nutritif qui est indispensable à la germination "in vivo" de la spore aspergillaire. La présence nécessaire de ce vernis muqueux explique que le revêtement cutané n'intervient pas dans la contamination spontanée. Celle-ci ne peut se faire par une muqueuse normale mais par une "muqueuse altérée, porteuse de lésions évolutives ou cicatricielles, suscitant une insuffisance locale du drainage physiologique" (51).

La présence d'une muqueuse lésée dans une cavité préexistante suffisamment aérée (l'Aspergillus étant aérobie) où stagne du mucus, représente par excellence les conditions de contamination.

L'étiologie de ces cavités est très variable. Les cavités d'origine tuberculeuse semblent être les plus fréquentes (43 dans 104 cas d'Aspergillose observés (21)). Cependant certaines maladies professionnelles telles que la pneumoconiose des mineurs de charbon, les cancers broncho-pulmonaires, surtout s'ils sont le siège de nécrose, ou des affections broncho-pulmonaires chroniques, peuvent constituer des terrains favorables.

La présence de ces cavités aériennes résiduelles, chez un sujet ayant subi antérieurement un traitement antibiotique de longue durée, semble également favoriser le développement mycosique.

De nombreux auteurs attribuent aux traitements antibiotiques antérieurs la cause de la maladie. DOLLE dans sa thèse en 1960 (26) montre l'existence d'un parallélisme important entre la date d'apparition de l'antibiothérapie, son extension, sa fréquence et l'accroissement du nombre de mycoses. Cette théra-

peutique paraît créer des conditions favorables au développement aspergillaire :

- d'une part, indirectement, en créant des cavités résiduelles stériles, surtout dans les cas de tuberculose,

- d'autre part, directement en rompant l'équilibre entre les différentes flores saprophytes en concurrence nutritive à l'état normal.

Ces antibiotiques favoriseraient l'élimination des germes microbiens et le champignon, saprophyte fréquent du pharynx et des bronches (18) pourrait ainsi acquérir un pouvoir pathogène par la seule action extérieure de cette médication, sans modification intrinsèque de sa constitution.

A ces facteurs favorisants primordiaux s'ajoutent des facteurs secondaires :

- L'état général des malades intervient. Une diminution de résistance d'un organisme favorise l'affection. Certaines "maladies débilitantes" au pronostic sombre telles que les lymphomes malins, les leucémies, les anémies aplastiques, les maladies infectieuses sévères diminuent la résistance de l'organisme à l'égard d'un envahisseur aspergillaire éventuel. Une absence ou une diminution de moyens immunitaires prédisposent également à une greffe mycosique.

- L'âge : Les auteurs s'accordent pour considérer l'Aspergillose comme une affection de l'adulte d'âge moyen.

KOEHL (48) cite les statistiques suivantes :

moins de 20 ans	5 %
de 20 à 50 ans	60 %
plus de 50 ans	35 %

- La profession : Il ne semble pas qu'elle joue un rôle très important et qu'il y ait des professions spécialement exposées comme le laissaient supposer les premiers auteurs. Il ressort simplement des différents travaux de statistiques analysés que certaines maladies professionnelles créent des terrains propices au développement de cette affection.

- Le sexe : On note une prédominance masculine dans la proportion de 70 % de cas chez l'homme pour 30 % chez la femme.

- Répartition géographique : En raison de la présence universelle du champignon ou de ses spores, la maladie ne permet aucune localisation géographique particulière. Cependant comme le signale KOEHL (48) la publication des cas d'Aspergillomes dans les différents pays semble être, dans une large mesure fonction de leur degré de développement :

- dans les pays où l'infrastructure sanitaire est le moins développée, les publications sont très rares. Cela laisse supposer que la tuberculose suit son évolution normale et empêche la création de conditions favorables à une parasitose.

- dans les pays européens à foyers importants de tuberculose, les cas l'Aspergillomes sont le plus souvent rapportés. Il est donc permis de penser que les tuberculeux guéris, ayant subi une antibiothérapie de longue durée, constituent un terrain propice à l'Aspergillose.

- enfin, dans les pays ayant réussi à faire disparaître la tuberculose en très forte proportion (U.S.A., pays scandinaves (76)), les Aspergillomes pulmonaires sont bien plus rares que ceux greffés sur d'autres organes (Aspergilloses chirurgicales).

PATHOGÉNIE :

Plusieurs théories pathogéniques de l'Aspergillose pulmonaire ont été proposées.

Dès 1897, RENON (83) distingue les Aspergilloses primitives de celles greffées sur des lésions préexistantes et cite déjà la tuberculose comme affection causale.

Cependant, les recherches ultérieures entreprises par DEVÉ (24) en 1938 puis par MONOD et PESLE (63) en 1951 attachent davantage d'importance aux cas primitifs et définissent les Aspergillomes sous le terme "d'Aspergillome bronchectasiant".

D'après ces auteurs, cette "tumeur solitaire" se développerait dans une bronche normale, dont elle repousserait la paroi. Elle augmenterait progressivement de taille en refoulant la paroi bronchique sur laquelle elle est simplement posée et dont elle est séparée à sa partie supérieure par un croissant gazeux.

BREA (14), en 1952, émet l'hypothèse inverse : il y aurait une cavité primitive colonisée ultérieurement par le champignon. De nombreux travaux confirment cette hypothèse et plusieurs publications d'Aspergillomes multiples viennent infirmer la notion d'Aspergillome "tumeur solitaire". La prédominance apicale du parasite est expliquée par la fréquence de cavités préexistantes dans cette partie pulmonaire et s'oppose ainsi à la conception classique de l'Aspergillome bronchectasiant.

En 1961, LAHOURCADE (50) formule une nouvelle théorie qui concilie les deux précédentes et conserve la part de vérité de chacune d'elles. Elle est basée sur des constatations cliniques et anatomo-pathologiques.

D'après cette dernière théorie pathogénique, deux conditions sont nécessaires au développement d'un Aspergillome :

- une lésion bronchique initiale, d'origine congénitale ou acquise,

- une cavité préexistante, aérée dont la nature et la taille sont sans importance, mais qui doit contenir du mucus pour permettre à l'Aspergillome de se développer et doit être drainée par une ou plusieurs bronches pour communiquer avec le milieu extérieur.

De ces données, il résulte :

- que l'Aspergillome pulmonaire prétendu "primitif" ne peut exister,

- que ces exigences impliquent l'absence presque constante d'Aspergillomes dans les bases pulmonaires, lieux d'élection des cavités bronchectasiques (50).

En conclusion, en nous référant à la littérature, il apparaît que les Aspergillomes secondaires représentent la presque totalité des cas actuels.

Il persiste néanmoins la possibilité de greffe autonome de l'Aspergillus sur un poumon sain. Ce sont des cas très rares et la démonstration de l'intégrité préalable du poumon est très difficile à établir.

LES ASPERGILLOSES

Les Aspergillus sont des champignons filamenteux, très répandus dans la nature, dont les organes de reproduction peuvent provoquer des mycoses profondes connues sous le nom d'Aspergilloses. Ils provoquent essentiellement des maladies de l'appareil respiratoire dues principalement à Aspergillus fumigatus, exceptionnellement à Aspergillus nidulans ou Aspergillus flavus. Ces mycétomes aspergillaires peuvent avoir cependant d'autres localisations et créer des otomycoses, des kératites de la cornée et des infections généralisées. Ces champignons, enfin, pourront être à l'origine de réactions allergiques.

Dans ce chapitre, nous envisagerons plus spécialement l'Aspergillose pulmonaire et nous citerons rapidement les autres localisations (l'otomycose), et les réactions allergiques provoquées par les Aspergillus.

I - L'ASPERGILLOSE PULMONAIRE.

L'Aspergillose broncho-pulmonaire est une pneumopathie fongique et se classe dans le groupe des mycoses profondes.

DÉFINITION :

L'Aspergillose pulmonaire est une affection caractérisée par l'envahissement massif du parenchyme pulmonaire par un champignon du genre Aspergillus, dont l'espèce fumigatus est le plus souvent rencontrée.

Le terme d'Aspergillose désigne la forme diffuse de la parasitose, alors que le terme d'Aspergillome est réservé à sa forme localisée.

ÉTIOLOGIE :

Cette mycose, dont les moyens de diagnostic se sont beaucoup améliorés ces dernières années, a vu sa fréquence nettement augmenter depuis 1962. Cette extension de la maladie semble liée à l'apparition de conditions favorables au développement "in vivo" du champignon parasite. Ces conditions ne sont pas encore toutes connues mais un rôle important dans l'éclosion de cette maladie pourrait être attribué à une antibiothérapie massive et prolongée chez un sujet présentant des cavités aériennes intrathoraciques.

Cette maladie touche en règle générale l'adulte d'âge moyen (30-50 ans) et plus souvent l'homme que la femme. Un état général déficient est considéré comme un facteur favorisant.

Il ne semble pas qu'une notion de répartition géographique puisse être retenue. Des cas d'Aspergillomes ont été décrits tant en France qu'en Allemagne, Italie, Suisse, Espagne, Portugal, Angleterre, Etats-Unis, Amérique du Sud et Afrique. Quant au rôle du métier dans cette affection, il est très discuté. Suivant certains auteurs, les plus anciens (82) il y aurait des professions particulièrement exposées : les manipulateurs de grains et de farines, les gaveurs de volailles et les peigneurs de cheveux (ils dégraissaient leurs perruques avec de la farine de seigle). Actuellement cette notion n'est plus guère retenue, vu la répartition ubiquitaire de ce champignon. Un air pollué peut contenir jusqu'à 240 millions de spores par gramme (59). Cependant l'Aspergillose broncho-pulmonaire est reconnue comme maladie professionnelle aux Etats-Unis dans la province de l'Illinois qui est un pays céréalier (15).

PATHOGÉNIE :

Les théories pathogéniques sont nombreuses et souvent controversées.

En règle générale, l'Aspergillose se grefferait de façon préférentielle sur des cavités préexistantes aériennes, situées dans les parties supérieures du poumon. Des greffes autonomes de l'Aspergillus sur un poumon sain pourraient se faire. Le nombre de cas primitifs est très rare et il reste extrêmement difficile d'affirmer et de démontrer l'intégrité préalable du poumon.

ANATOMIE PATHOLOGIQUE :

- Morphologie macroscopique de la masse Aspergillaire :

Sa structure est bien connue et se présente classiquement comme une masse sphérique, mamelonnée, de dimension variant de 2 à 10 cm ou plus. La truffe est hémorragique, de consistance variable mais le plus souvent ferme, de couleur brune, pourpre ou mastic. Elle est libre et se détache facilement de la muqueuse bronchique sur laquelle elle repose.

- Aspect microscopique de la sphère Aspergillaire :

Si l'aspect macroscopique est très évocateur, seul l'examen microscopique de la pièce opératoire peut affirmer le diagnostic d'Aspergillome. La sphère aspergillaire se compose de très nombreux filaments mycéliens, ramifiés, cloisonnés, à parois minces et à extrémités souvent renflées. Ces filaments mesurent 4 à 5 µ de diamètre et les images de fructification sont très rarement visibles (28).

- Structure de la paroi cavitaire :

Son étude est très importante dans la détermination du caractère primaire ou secondaire de l'Aspergillose.

Dans les formes secondaires, formes les plus fréquentes, le siège de la cavité parasitée est celui de l'affection causale, la tuberculose, le plus souvent. Classiquement, cette localisation est unique, mais ces dernières années, des localisations multiples, homolatérales ou controlatérales, ont été décrites.

L'aspect macroscopique de la cavité est fonction de l'étiologie de l'Aspergillose. Dans les cas secondaires, on distingue, d'une part des cavités à parois lisses, non purulentes mais inflammatoires, du fait des toxines nécrogènes sécrétées par le parasite, d'autre part celles où la vitalité réduite du champignon permet le développement d'une infection se traduisant par un dépôt purulent et des suppurations au niveau de la paroi. De plus, on retrouve constamment une ou plusieurs bronches de drainage qui permettent l'apport d'oxygène nécessaire à la survie du parasite.

L'étude histologique de la paroi met en évidence la superposition de plusieurs couches. De la zone de contact de la truffe vers l'extérieur, on distingue :

- une première barrière de polynucléaires en partie altérés,

- une zone de tissu de revêtement soit épithélial, soit granulo-fibreux,

- enfin une couche de fibrose inflammatoire, souvent très épaisse et qui se singularise par une importante infiltration cellulaire où dominent des plasmocytes, des mononucléaires, des mastocytes et des polynucléaires.

On note l'absence d'éosinophiles, bien que l'éosinophilie sanguine ait été signalée.

Le parenchyme pulmonaire avoisinant la lésion n'est pas toujours intact et des lésions non spécifiques de sclérose peuvent être observées.

Les vaisseaux sont parfois thrombosés mais le plus souvent congestionnés.

SÉMIOLOGIE DE LA FORME CLASSIQUE :

La forme classique de l'Aspergillome broncho-pulmonaire a été individualisée par MONOD (60, 61, 62, 63) et l'observation princeps a été faite par DEVÉ (24).

Le début de la maladie est le plus souvent insidieux et sa symptomatologie est dominée par un signe fonctionnel majeur, retrouvé dans la plupart des cas : l'hémoptysie. Ce sont des hémoptysies solitaires de petite ou moyenne abondance, presque toujours afébriles, se reproduisant à des intervalles irréguliers, quelquefois éloignées de plusieurs mois ou années, sans altération particulière de l'état général.

Ces hémoptysies peuvent naître d'un effort physique ou d'un changement de position du malade. DEVÉ, dans son observation (24) remarque que suivant l'attitude adoptée par le malade, la masse aspergillaire peut libérer ou obstruer la bronche de drainage et provoquer ainsi des hémoptysies.

Outre ces hémoptysies, la symptomatologie clinique fonctionnelle est très pauvre. L'altération de l'état général, qui ne peut être retenue comme un signe spécifique, est souvent due à l'anémie par hémoptysies répétées (43, 52) ou aux affections coexistantes avec l'Aspergillose. On peut cependant noter un amaigrissement discret et, parfois de l'asthénie.

EXAMENS COMPLÉMENTAIRES :

Comme nous venons de le voir, la symptomatologie clinique est peu évocatrice et le diagnostic d'Aspergillose sera confirmé par les examens complémentaires.

Etude radiologique

La technique radiologique fut pendant longtemps la seule permettant de poser le diagnostic d'Aspergillome broncho-pulmonaire. Elle reste actuellement encore d'une très grande utilité dans le dépistage de l'affection.

Dans la triade de DEVÉ (24), "l'image en grelot" est un des points essentiels de la symptomatologie de l'Aspergillome pulmonaire, avec les hémoptysies solitaires. C'est l'image pulmonaire caractéristique constituée "d'une opacité ovalaire ou arrondie, assez dense, homogène, surmontée d'un croissant clair aérien qui est généralement mince et qui la sépare vers le haut d'un fin liseré opaque périphérique" (50). "L'image en grelot", classique actuellement, bien que non absolument pathognomonique considérée isolément, a une valeur diagnostique certaine placée dans son contexte clinique. Cette lésion, comme l'avait déjà remarqué MONOD, siège le plus souvent au niveau de l'un des apex. La localisation à la base est exceptionnelle.

Les examens radiologiques renseignent non seulement sur l'état des lésions, mais également, lors de clichés successifs, sur l'évolution de l'Aspergillome et restent d'une aide très précieuse pour le clinicien.

Bronchoscopie

La bronchoscopie n'apporte que peu de renseignements caractéristiques. Elle révèle le plus souvent l'intégrité de l'arbre bronchique. Cependant, elle a permis dans quelques cas, d'isoler et de cultiver l'Aspergillus à partir de produits de broncho-aspiration prélevés au voisinage de la lésion (50).

Examens d'exploration fonctionnelle

Ils sont très importants dans la décision opératoire (31).

Ponction transpariétale

Elle permet de faire un prélèvement direct au niveau de l'Aspergillome et ainsi d'identifier l'agent pathogène par examen microscopique et par culture. Cependant cette technique présente certains risques et ne peut être utilisée que dans des conditions particulières (35, 100).

Investigations mycologiques

Ce sont les investigations biologiques les plus anciennes et elles consistent à mettre en évidence le champignon, soit par l'examen direct, soit par culture (89).

Prélèvements :

On trouve les parasites dans les crachats, les bronchoscopies, les exérèses ou nécropsies pulmonaires.

Examen direct :

Classiquement cet examen s'effectue d'une part à l'état frais entre lame et lamelle, avec ou sans KOH à 30 % et d'autre part après coloration du frottis par la méthode de Gram, de Giemsa, de Ziehl, ou au bleu de méthylène.

Les Aspergillus se présentent sous forme de filaments hyalins, sinueux, cloisonnés, bifurqués, bien délimités par une membrane et d'un diamètre assez constant de 3 à 4 μ .

La présence de spores dans les crachats n'est pas caractéristique. Ces spores sont souvent des saprophytes de la cavité buccale et des voies respiratoires supérieures.

Culture :

L'Aspergillus pousse en colonies filamenteuses plates. Elles apparaissent en 24 à 48 heures à 37°C et verdissent après 3 à 4 jours par production de spores.

L'aspect macroscopique des colonies et les dimensions microscopiques du champignon varient suivant les milieux de culture. Les caractères des espèces d'Aspergillus pathogènes sont résumés sur le tableau I emprunté à SEGRETAIN et coll. (89).

		A.fumigatus	A.nidulans
Culture sur Czapek	Aspect	Plan, velouté avec touffes de mycélium aérien blanches, cotonneuses; très variable.	Plan, velouté.
	Couleur	Vert, puis vert foncé à gris noirâtre, parfois presque blanc.	Vert cresson foncé.
	Revers	Incolore à jaune, puis rouge foncé.	Rouge-pourpre, puis très foncé.
Fructification asexuée	Tête conidienne	Colonne compacte de spores longueur > 100 µ .	Colonne de spores plus courte < 100 µ .
	Conidiophore	Court 300 µ lisse, incolore.	Très court 60 µ, sinueux, lisse, brun.
	Vésicule	Conidiophore élargi.	Hémisphérique.
	Stérigmates	1 série,parallèles,fixés sur la partie supérieure de la vésicule.	2 séries, parallèles.
	Conidies	Globuleuses, échinulées, vertes.	Globuleuses, échinulées, vertes.
Fructification sexuée	Périthèce	0	± : globuleux, 130 µ, jaune à brun.
	Ascospores	0	± : rouges.
	Cellules en noisettes	0	+ : 20 µ de diamètre.
	Filaments	Incolores.	Incolores.
	Température de développement	37° - 50°C	37°C

TABLEAU I

CARACTERES DE 2 ASPERGILLUS PATHOGENES

Pouvoir pathogène expérimental :

L'inoculation de 1 à 2 ml d'une suspension de spores dans la veine de l'oreille d'un lapin provoque la mort de l'animal en 3 à 5 jours. Les retro-cultures d'organes sont positives et le parasite est très visible dans les reins hypertrophiés.

Cependant ces recherches mycologiques suscitent de nombreuses critiques. Elles sont souvent à l'origine d'erreurs par excès en raison de la fréquence d'Aspergillus saprophytes dans la cavité buccale et dans les voies respiratoires supérieures.

Elles peuvent, dans certains cas, pêcher par défaut, soit qu'il n'y ait pas libération de filaments mycéliens ou de spores, soit qu'il n'y ait pas de communication directe avec l'arbre bronchique (VOISIN (100)).

En conclusion, les résultats des études mycologiques doivent être interprétés avec beaucoup de circonspection. On ne pourra en tenir compte que s'ils coïncident avec des signes cliniques et radiologiques évocateurs de mycose broncho-pulmonaire et avec le résultat des examens immunologiques lorsque ceux-ci sont possibles.

Testsbiologiques

Ils ont pris depuis quelques années une place très importante dans le diagnostic de la maladie.

Réaction cutanée à l'antigène aspergillaire :

Elle donne des résultats discordants souvent erronés et n'a plus guère actuellement qu'un intérêt historique. D'après CAMBELL et CLAYTON (16) cela serait dû à la nature des anticorps suscités par l'Aspergillome. Il provoquerait surtout la naissance d'anticorps du type précipitines et peu d'anticorps de type réagines, responsables des réactions d'hypersensibilité cutanée.

Recherche de précipitines sériques anti-aspergillaires :

Leur mise en évidence, depuis 1962, dans le sérum de malades a permis de poser bien plus souvent le diagnostic de cette maladie.

Après les travaux de PASTEUR-VALLERY-RADOT et GIROUD en 1928 (68) sur les anticorps précipitants du sérum, PEPYS et coll. (72) en Angleterre, DROUHET et SEGRETAIN (29) à l'Institut Pasteur de Paris, BIGUET et son école à Lille (37) ont re-

pris les recherches sur les antigènes des Aspergillus et ont mis en évidence par des méthodes d'immunodiffusion et d'immunoélectrophorèse des anticorps spécifiques chez des sujets porteurs d'Aspergillomes pulmonaires.

Nous décrirons les techniques utilisées, et discuterons des résultats obtenus dans un chapitre ultérieur consacré à notre travail personnel.

En résumé, l'examen des précipitines sériques est de la plus grande importance dans le diagnostic de l'Aspergillome. Il permet dans le plus grand nombre de cas, un diagnostic formel bien que sa négativité n'élimine pas complètement la possibilité d'un Aspergillome.

FORMES CLINIQUES :

Les formes cliniques de l'Aspergillose pulmonaire sont très nombreuses. KOEHL dans sa thèse faite à la Clinique pneumo-phtisiologique de l'Hôpital de Strasbourg (48), en a dressé un excellent inventaire et nous suivrons son plan.

1 - Formes symptomatiques

a) Formes pauci-symptomatiques :

Dans 34 % des cas les hémoptysies font défaut.

b) Formes latentes :

Ces formes sont bien plus nombreuses qu'on ne le pensait. Elles se signalent par une absence de symptomatologie clinique. Elles sont soit primitives, soit le plus souvent secondaires à des affections tuberculeuses pulmonaires et ne peuvent être décelées que par un dépistage immunologique systématique.

c) Formes à symptomatologie trompeuse :

Ces Aspergillomes peuvent emprunter les symptômes à des maladies broncho-pulmonaires et l'on peut distinguer :

- les formes pseudo-tumorales qui peuvent prendre l'aspect d'un cancer bronchique. Le diagnostic différentiel peut être fait grâce à des investigations complémentaires au premier rang desquelles figure la recherche des précipitines sériques.

- les formes pseudo-tuberculeuses. Ici également les tests immunologiques apportent un élément décisif au diagnostic.

d) Formes associées à une infection :

RENON signalait déjà dans son étude en 1897 (83) la coexistence de la tuberculose et de l'Aspergillose chez certains malades.

Les travaux expérimentaux ultérieurs, cependant, ont amené la plupart des auteurs à reconnaître une "antipathie" certaine entre les Aspergillus et les microbes d'environnement. Ils ont extrait du parasite la fumigacine, la fumigatine et l'acide aspergillique et ont démontré l'action antibiotique de ces produits.

Ces données permettent d'envisager 2 stades successifs d'évolution de la maladie :

- champignon vivant : présence d'hémoptysies et absence d'infection secondaire, attribuée à la sécrétion d'antibiotiques par l'Aspergillus.

- mort du champignon : l'équilibre flore bactérienne-Aspergillus est rompu et on peut assister à l'apparition de suppurations, fièvre, expectoration purulente, signes d'une infection aiguë. Lors d'examens bactériologiques on peut retrouver des bacilles de Koch et des germes dans la cavité de l'Aspergillome (30, 57, 65).

2 - Formes évolutives

L'Aspergillome est généralement considéré comme une maladie chronique, d'évolution lente et sans régression spontanée.

a) Formes de début :

Elles se caractérisent par leur latence clinique.

- l'infestation cavitaire aiguë est une forme particulière et rare. Elle se caractérise par le développement très rapide du parasite dans une cavité, tuberculeuse le plus souvent. Le tableau clinique est celui d'une affection broncho-pulmonaire aiguë, fébrile, à expectoration purulente qui contient la plupart du temps de l'Aspergillus. Après ce stade initial, l'évolution peut se faire vers la chronicité, avec apparition ultérieure d'une image en grelot. Dans la phase aiguë, les tests biologiques jouent un très grand rôle diagnostique.

- formes à début atypique : ce sont des Aspergillomes secondaires à des lésions infiltratives du poumon. On distingue :

. pneumopathies infiltratives banales : le champignon semble profiter de l'état de délabrement local et creuse lui-même sa cavité.

. Aspergilloses diffuses primitives : plusieurs auteurs rapportent des cas où l'on peut suivre le développement d'une Aspergillose diffuse aiguë, puis d'un ou de plusieurs Aspergillomes typiques, dans les cavités de nécrose aspergillaire (17, 22, 46, 47, 58, 84).

b) Formes évolutives proprement dites :

La durée d'évolution de la truffe aspergillaire peut varier de 3 semaines à plusieurs dizaines d'années.

Les modalités évolutives sont variables. Dans la forme classique, la masse mycélienne augmente progressivement de volume et durant cette période de vitalité on ne note jamais d'infection. MARTIN-LALANDE rapporte un cas d'une forme à rechute d'un Aspergillome. Les 6 mois d'évolution normale sont suivis d'une période de régression spontanée puis d'un épisode suppuratif et enfin d'une nouvelle croissance mycélienne (57). Il semble que cette forme d'évolution soit liée à une forte compétition entre les germes microbiens et le champignon.

Enfin depuis 1953, date de la publication du cas princeps par LAGEZE (49), les observations de localisations multiples sont de plus en plus nombreuses. Certains Aspergillomes greffés sur plusieurs cavités d'un même poumon ont une évolution simultanée et il est difficile d'affirmer ou d'infirmer une filiation entre eux. D'autres ont un développement successif et il est tentant d'y voir des métastases d'une truffe principale.

c) Formes terminales :

Il existe des formes aiguës et suraiguës rapidement mortelles dans un tableau clinique grave (46); des formes lentes, les plus classiques, qui se terminent par la mort souvent à la suite d'une hémoptysie foudroyante (19, 44, 74, 97); enfin des formes qui se compliquent de surinfection bactérienne générale ou locale.

Dans cette énumération des formes évolutives à pronostic défavorable, il faut ajouter d'une part des cas exceptionnels de régression spontanée et de guérison totale (30, 74), et d'autre part des cas plus fréquents de tuberculose évolutive concomitante dont l'un a été publié par ROEGEL et coll. (84).

3 - Formes radiologiques

L'image radiologique n'est pas toujours celle "en grelot" décrite par les premiers auteurs et schématiquement son évolution au cours de la maladie peut se diviser en quatre périodes :

a) Stade de tapissage endo-cavitaire : Selon SEGRETAIN (88) l'Aspergillus présente la particularité de ne fructifier qu'en surface et au début de son développement, il tapisse complètement la cavité qu'il parasite. Du point de vue radiologique on peut noter un épaississement de la coque cavitaire, bien que ces formes prises à leur début soientsouvent indécelables. VOISIN, BIGUET, TRAN VAN KY et coll. (99) ont rapporté 8 réactions immunologiques positives chez 90 tuberculeux cavitaires examinés et ne présentant au-

cun signe radiologique d'Aspergillome. C'est dire l'importance des recherches de précipitines sériques chez les tuberculeux cavitaires chroniques.

b) Stade de grelot en croissance que l'on a pu objectiver par des clichés successifs du noyau aspergillaire au fond de la cavité.

c) Stade pseudo-tumoral. Ce serait un stade ultérieur où la truffe atteint son maximum d'extension dans la cavité. "L'image est celle d'une opacité ronde, sans croissant d'air, où la crainte d'un processus malin pousse à l'exérèse". (48).

d) Stade de grelot classique. C'est la phase adulte de la truffe, durant laquelle un croissant d'air est toujours retrouvé en sa partie supérieure.

4 - Aspergillomes pleuraux

Les greffes aspergillaires dans l'espace pleural sont rares.

Cliniquement, elles ne se traduisent pas par des hémoptysies, mais parfois par un banal épanchement pleural (53, 91). Le plus souvent, elles sont découvertes lors d'examens radiologiques systématiques (33). Les aspects radiologiques sont très variables et la truffe n'est nettement visible qu'au stade adulte. Ce seront les examens immunoélectrophorétiques, toujours très positifs dans ces cas, qui apporteront la certitude de la parasitose.

L'Aspergillus pénètre dans la plèvre la plupart du temps à la suite de manoeuvres thérapeutiques visant à mettre en communication transitoire (ponction) ou durable (drainage) l'espace pleural avec extérieur. Quelquefois, les fistules broncho-pleurales peuvent servir de voie de pénétration au champignon. Tous les cas d'Aspergillomes pleuraux cités dans la littérature sont secondaires à une lésion antérieure de la séreuse.

5 - Formes étiologiques

La littérature fournit de nombreux renseignements sur les cavités ou les remaniements parenchymateux pouvant être parasités par le champignon. Ce pourront être :

- des pneumopathies diffuses : silicose (3), bronchopneumonie (1), Aspergillose diffuse (47, 84) par exemple.

- des cavités d'origine bronchique : kystes congénitaux (14, 20, 43, 45), cavités consécutives à une pneumoconiose (38), à une primo-infection tuberculeuse (74), une histoplasmose (80).

- des cavités diverses : pleurales, post-opératoires, cancéreuses, hydatiques, staphylococciques (43), post-radiothérapiques (17, 54).

- tuberculose chronique qui est le terrain d'élection de la greffe aspergillaire. Le champignon se fixera toujours dans des cavités stérilisées par les antibiotiques depuis un certain temps (plus d'un an en général). On notera la réapparition d'hémoptysies et la formation d'images radiologiques évocatrices. Les recherches des précipitines sériques confirmeront le diagnostic d'Aspergillome secondaire à des tuberculoses.

DIAGNOSTIC :

Diagnostic positif

On peut le poser en confrontant :

- les données cliniques souvent suggestives : hémoptysies répétées, isolées; séquelles stériles de tuberculose pulmonaire,

- les données radiologiques : l'image caractéristique en grelot,

- les données biologiques : recherche bacillaire négative et surtout présence de précipitines sériques anti-aspergillaires dans le sérum du malade.

Toutes ces données permettent de poser avec certitude le diagnostic d'Aspergillome.

Diagnostic différentiel

Les aspects radiologiques d'image en grelot ou d'opacité arrondie sont souvent d'interprétation difficile et peuvent prêter à discussion. Les tests sérologiques permettront de résoudre le problème. Nous verrons dans le chapitre suivant les possibilités et les limites de cette méthode immunologique.

THERAPEUTIQUE :

1 - Mesures préventives :

Le traitement prophylactique de l'Aspergillome bronchopulmonaire est une notion très récente et ne se fait guère actuellement. Il consisterait à limiter les antibiothérapies massives et prolongées chez les tuberculeux.

2 - Traitement symptomatique :

Il se résume essentiellement dans la lutte contre les hémoptysies. Ces hémorragies d'origine aspergillaire seraient

en rapport avec la sécrétion d'une kinase par le champignon.Celle-ci déclencherait une fibrinolyse. Selon PESLE et TRIBOULET (78) l'acide epsilon-amino-caproïque est un inhibiteur électif de cette toxine et son usage fréquent en clinique le confirme.

3 - Thérapeutique curative :

- Le traitement chirurgical est la seule thérapeutique radicale capable de mettre un terme à l'évolution de la maladie. Cependant son utilisation se heurte à de nombreuses contre-indications, dues le plus souvent à une déficience du terrain : mauvais état général, insuffisance cardiaque. D'après COROLLER (19) il n'y aurait qu'un cas opérable sur 9 observés.

Après exérèse chirurgicale, seule la disparition des précipitines sériques permet de parler de guérison totale. En l'absence de négativation des réactions immunologiques, il est permis de penser à la persistance de foyers aspergillaires.

- Le traitement médical a fait naître quelques espoirs ces dernières années depuis l'apparition des polyènes antifongiques permettant le traitement des mycoses profondes.

L'Iodure de potassium dont l'activité anti-mycotique est connue depuis longtemps est la thérapeutique la plus ancienne mais elle n'est plus guère utilisée actuellement.

La Mycostatine est un antifongique de contact et diffuse très peu.

L'Amphotéricine B (commercialisée sous le nom de FUNGIZONE), un des derniers antifongiques isolé, est l'antibiotique de choix dans les Aspergilloses (2). Il est extrait d'un actinomycète vénézuelien : le streptomycès nodosus.

- Propriétés : c'est un polyène. Sa structure chimique est caractérisée par 7 doubles liaisons conjuguées (heptaène). Il est à la fois fongistatique et fongicide. Son mode d'action semble relever de deux mécanismes :

. stimulation de la consommation d'oxygène puis inhibition de la respiration cellulaire,

. fixation sur la membrane du champignon en altérant ainsi la perméabilité cellulaire.

- Spectre d'action "in vitro" : Ce médicament a un large spectre d'action "in vitro" sur les champignons saprophytes et pathogènes, avec une activité préférentielle sur les agents des mycoses profondes.

- Pharmacologie : L'Amphotéricine ne franchit pratiquement pas la barrière intestinale, même administrée à fortes doses, et

sa seule voie de pénétration est intra-veineuse. L'élimination est essentiellement urinaire.

- Toxicité : L'administration intraveineuse entraîne des réactions immédiates, généralement sans gravité et des réactions plus tardives souvent graves.

Les perfusions intraveineuses s'accompagnent de chocs thermiques avec frissons dans 96 % des cas et sont souvent suivies de céphalées et de troubles digestifs.

Cependant la véritable toxicité de l'Amphotéricine B est rénale. Il est fréquent d'observer une albuminurie et une cylindrurie lors d'un traitement parentéral (5, 27). Les formes de l'atteinte rénale sont très variables. L'élévation modérée et réversible de l'urée sanguine est souvent observée. Quelques cas de néphropathie irréversible ont également été signalés. L'attitude thérapeutique suppose donc une surveillance étroite du malade.

La voie locale présente une meilleure tolérance et les Aspergilloses pulmonaires et pleurales profitent mieux d'un traitement local : aérosol, injection transpariétale, injection intrapleurale.

Cependant, dans les cas les plus favorables, il semble que la guérison ne soit que locale et que ce traitement n'empêche nullement l'évolution d'autres formes mycosiques dans d'autres régions pulmonaires.

Dans l'état actuel de nos connaissances, l'intervention chirurgicale reste le seul traitement radical de l'Aspergillome.

II - AUTRES LOCALISATIONS DE L'ASPERGILLOSE.

En dehors du poumon, le mycétome aspergillaire peut siéger dans la plupart des cavités muqueuses du corps humain à condition qu'elles présentent des conditions d'aération et de mauvais drainage nécessaires à la germination du champignon. Ainsi on trouve relaté dans la littérature quelques cas d'Aspergillome urinaire, d'Aspergillomes sinusiens, et depuis ces dernières années des cas d'endocardites à Aspergillus. La chirurgie cardio-vasculaire à coeur ouvert semble créer des circonstances favorisantes à cette complication (4). Cependant ces cas sont rares comparés à la fréquence de l'Aspergillose pulmonaire chez des tuberculeux soumis à la chimiothérapie.

L'OTOMYCOSE est une forme d'Aspergillose assez répandue et se caractérise par une infection chronique ou subaiguë de l'oreille externe et du conduit auditif.

C'est une infection à large distribution géographique avec une localisation préférentielle dans les régions chaudes et humides du globe.

- Symptomatologie clinique :

Les malades présentent un conduit auditif oedématié, érythémateux. L'inflammation est généralement accompagnée d'une désquamation et l'audition est gênée.

L'association fréquente d'une infection microbienne entraîne douleur et suppuration.

- Etude mycologique :

On admet actuellement que seules 12 à 20 % des infections de l'oreille sont de véritables otomycoses; la plupart sont d'origine bactérienne (streptocoques). Lorsque les otomycoses sont d'origine fongique, le champignon en cause peut être variable et dans la majorité des cas on cite : Aspergillus, Penicillium, Mucor ou candida (65).

Le diagnostic mycologique est basé sur l'identification des mycéliums et des spores dans des préparations fraîches obtenues à partir de prélèvements effectués dans le conduit auditif.

Ces mêmes prélèvements peuvent être ensemencés sur milieu de SABOURAUD ou sur milieu de CZAPEK. Les préparations sont placées pendant deux à trois semaines à une température de 25°C.

Parmi les Aspergillus pathogènes, Aspergillus niger est une espèce fréquemment rencontrée.

- Pronostic et Traitement :

Les formes chroniques de l'otomycose sont très résistantes au traitement; toutefois, le pronostic est en général bon dans les cas où l'affection est reconnue assez tôt et le traitement rapidement institué. Il consiste en un nettoyage de l'oreille (solution d'acétate d'aluminium à 5 %) puis en un traitement local par des antifongiques.

III - LES ALLERGIES D'ORIGINE ASPERGILLAIRE.

Enfin, il faut citer les manifestations allergiques dues aux Aspergillus et en particulier l'asthme aspergillaire.

L'Aspergillus est un champignon très répandu dans la nature et se trouve dans l'air, le sol, les plantes, les animaux et même dans les habitations : moisissures des murs, des vêtements.

Le plus souvent il vit en symbiose avec les racines des plantes et ses spores sont répandues dans l'atmosphère lors de la floraison de ces dernières.

On a isolé et identifié l'Aspergillus dans tous ces éléments par culture. On l'a retrouvé avec la même fréquence que les pénicilliums.

Le champignon et ses substances antigéniques peuvent provoquer chez l'homme deux sortes de réactions immunologiques : soit une production d'anticorps, soit des manifestations allergiques.

CIRCONSTANCES PROFESSIONNELLES D'ALLERGIE FONGIQUE :

Des sujets peuvent se trouver en contact avec des spores de champignon durant leur travail. Elles peuvent ainsi déclencher de véritables réactions allergiques quand elles surviennent sur un terrain prédisposé.

Chez les agriculteurs, les ouvriers de malteries, les pelleteurs de grains, l'allergie à l'Aspergillus est connue. WARME, en 1939, cite une épidémie d'asthme chez des ouvriers pelleteurs de grains, dans l'expectoration desquels on retrouve de l'Aspergillus fumigatus (86).

D'autres professions ont été citées comme exposant à des allergies aspergillaires :

- profession de tisserand, notamment dans la manipulation du coton humide,

- industrie du cuir, et de la tannerie.

DIFFERENTES FORMES D'ALLERGIE DETERMINEES PAR LES ASPERGILLUS :

L'allergie aspergillaire se caractérise par des manifestations essentiellement respiratoires. Les formes les plus connues sont :

- la rhinite allergique,

- les sinusites allergiques,

- la toux spasmodique,

- la bronchite aspergillaire asthmatiforme décrite en 1956 par PESLE (75). Elle se traduit par de la toux, de la dyspnée, de la fièvre et serait due à l'inhalation de spores d'Aspergillus fumigatus.

DIAGNOSTIC DES ALLERGIES DETERMINEES PAR LES ASPERGILLUS :

Le diagnostic de ces allergies peut être orienté par l'interrogation : antécédents familiaux, personnels, profession et lieu de travail.

Les tests cutanés, la mise en évidence de l'Aspergillus dans l'expectoration peuvent avoir une valeur d'orientation.

Ce sont les méthodes biologiques de recherche de précipitines anti-aspergillaires dans le sérum des malades, par la méthode d'OUCHTERLONY et surtout par l'analyse immunoélectrophorétique, qui permettront de confirmer le diagnostic.

MOYENS THERAPEUTIQUES :

Ces malades pourront faire l'objet d'une thérapeutique par désensibilisation spécifique à partir de la souche isolée chez le malade lui-même.

D E U X I E M E P A R T I E

La découverte d'anticorps précipitants dans le sérum de malades atteints d'Aspergillose a permis de faire ces dernières années de très grands progrès dans le diagnostic immunologique de cette affection.

Nous consacrerons la deuxième partie de notre travail à cette étude immunologique.

Nous commencerons par faire un bref rappel de quelques notions d'immunologie, puis nous énumérerons les différentes techniques de mise en évidence des anticorps et enfin nous envisagerons l'intérêt de ces réactions immunologiques dans l'étude des mycoses.

Nous prendrons pour référence DROUHET et SEGRETAIN, PEPYS et l'Ecole Londonienne et surtout BIGUET, CAPRON, TRAN VAN KY et l'Ecole Lilloise qui ont bien voulu nous initier à leurs techniques.

RAPPEL DE QUELQUES NOTIONS D'IMMUNOLOGIE

L'organisme humain résiste aux agents infectieux, que ce soient des bactéries, des virus, des parasites ou des champignons par divers processus qui lui confère une certaine immunité. Celle-ci peut être acquise ou naturelle.

L'homme jouit d'une certaine immunité naturelle vis-à-vis des champignons du type Aspergillus, contrairement à certaines espèces animales où l'on a signalé de véritables épizooties.

Cette protection propre à l'espèce, relève d'un mécanisme non encore élucidé et reste un des domaines mystérieux de l'immunologie.

Cette immunité naturelle est liée à l'existence de divers facteurs tant anatomiques que physiologiques, physiques ou chimiques. Ils constituent une véritable barrière. Ces facteurs peuvent varier d'un individu à un autre dans une même espèce mais également dans le temps pour un même individu. Parmi ces nombreux facteurs nous n'en citerons que quelques uns qui semblent spécialement intervenir dans les processus de défense naturelle de l'organisme contre les champignons de type Aspergillus.

1) Barrières anatomiques et physiologiques :

La peau représente la première ligne de défense. Les microorganismes ne pénètrent généralement pas par la peau intacte mais par les glandes sudoripares et sébacées. Or la sueur et les sécrétions sébacées ont un pH acide et contiennent des acides gras qui exercent un effet antimicrobien.

Une autre barrière est constituée par les tissus épithéliaux, la viscosité des muqueuses, la ciliation du tractus respiratoire supérieur et par la flore microbienne normale. Elle est permanente et inhibe la multiplication des agents pathogènes.

2) Facteurs tissulaires :

Des facteurs tissulaires tels que l'oxygénation, le pH, les conditions de métabolisme inhibent la multiplication des parasites. L'Aspergillus pathogène semble exiger pour son développement, des cavités suffisamment aérées et dans lesquelles stagne du mucus par suite d'un drainage incomplet (50).

3) Facteurs cellulaires :

La réaction inflammatoire constitue une autre barrière de défense. C'est une réaction locale. Elle consiste en l'accumu-

lation de liquide d'oedème dans la zone lésée et dans la formation d'un réseau de fibrine. Ces deux facteurs concourent à bloquer la circulation lymphatique et à limiter la dissémination de l'agent pathogène.

D'autres facteurs cellulaires, les cellules "immunologiquement compétentes" répondent à la stimulation antigénique par la formation d'anticorps. Ces cellules appartiennent principalement aux séries lympho-plasmocytaires.

Ces Aspergillus, extrêmement répandus dans la nature, ne trouvent pas chez l'homme sain les conditions favorables à leur développement. Ils ne pourront donc devenir parasites et pathogènes que sur des terrains particulièrement modifiés.

- ROLE DES ANTIGENES :

Le champignon va se comporter alors comme un antigène, c'est-à-dire une substance produisant une réaction immunitaire chez l'hôte. Cette réponse se manifestera :

- par la formation d'anticorps spécifiques,

- par une réaction d'hypersensibilité de type retardé. Elle est spécifique de l'antigène injecté.

Les propriétés antigéniques du champignon sont liées à ses toxines.

Ce sont des produits de métabolisme excrétés durant sa croissance, capables de léser les cellules de l'hôte et doués de propriétés antigéniques. Dans l'Aspergillus on trouve :

- des exotoxines, de nature protéique. Excrétées par le champignon, elles sont de puissants antigènes et suscitent la formation d'anticorps.

- des endotoxines, de nature complexe, glucido-lipidoprotéique. Elles sont contenues dans le cytoplasme et dans la paroi cellulaire et ne sont libérées que par désintégration spontanée ou provoquée.

Ces phénomènes d'immunité dans les mycoses ressemblent à ceux survenant dans les infections à bactéries, à virus ou à protozoaires.

Dans notre étude nous nous intéresserons plus spécialement à l'un des aspects de la réaction immunitaire, c'est-à-dire à la formation des anticorps.

- FORMATION DES ANTICORPS :

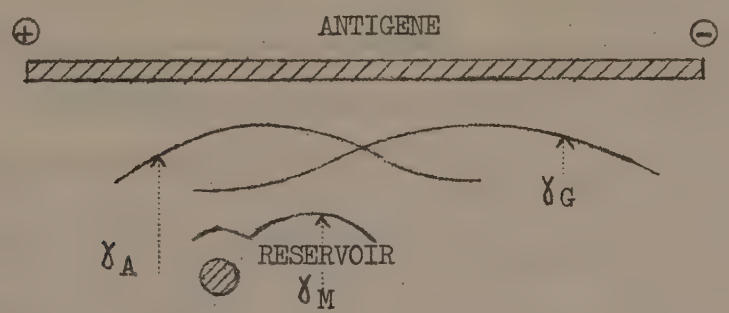
Ce sont des protéines, globulines élaborées par l'organisme en réponse à l'action des antigènes.

On les trouve dans le sérum et dans d'autres liquides et tissus du corps humain. Ils possèdent quelques sites réactifs leur permettant de se combiner spécifiquement avec le "groupement déterminant" de l'antigène qui lui a donné naissance.

Ils sont synthétisés de novo dans les tissus lymphoïdes à partir d'acides aminés, comme les autres protéines. Leur synthèse répond au schéma classique de la synthèse des protéines exposé par JACOB, MONOD et LWOFF. L'analyse chimique de ces molécules d'anticorps ne révèle que peu de différences avec les gamma globulines normales du sérum humain.

Comme toutes les protéines, les anticorps sont antigèniques. Injectés à un animal d'une espèce différente de celle de l'animal qui les a formés, les anticorps se comportent comme des antigènes. L'électrophorèse a révélé depuis longtemps que l'injection d'un antigène à un organisme animal provoque une augmentation des gamma globulines du sérum. Inversement, on note un effondrement des gamma globulines après précipitation des anticorps par les antigènes stimulateurs. Il est probable que toutes les immunoglobulines sériques représentent des anticorps spécifiques.

Des procédés de séparation et en particulier l'immunoélectrophorèse ont montré que ces gamma globulines pouvaient se scinder en 3 grands types : gamma A, gamma G, gamma M et en 2 moins importants : gamma D et gamma E. Ils sont très facilement individualisés sur le tracé immunoélectrophorétique :



- la plupart des anticorps de défense sont des gamma G ;

- les anticorps réaginiques (anticorps allergiques) sont des gamma A, (et des gamma E, selon certains auteurs);

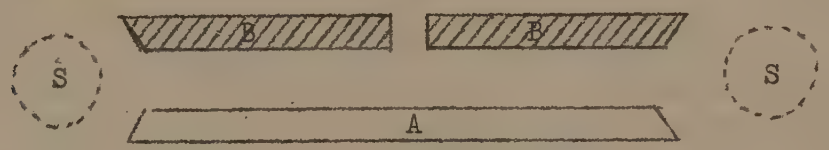
- l'anticorps de FORSMANN et les agglutinines froides humaines sont des gamma M.

Le clivage des immunoglobulines par action enzymatique ou par action d'agents réducteurs a permis de déterminer leur structure chimique. Elles sont formées de quatre chaînes polypeptidiques :

- 2 chaînes légères de poids moléculaire 20.000
- 2 chaînes lourdes de poids moléculaire 50.000

Ces chaînes sont reliées entre elles par des ponts disulfure.

Les immunoglobulines possèdent plusieurs fonctions biologiques, entre autres celle de se fixer spécifiquement sur l'antigène homologue quand elles remplissent leur fonction anticorps. La localisation de ce site anticorps a été l'objet de plusieurs hypothèses. De nombreux arguments sont en faveur de sa position terminale aux deux extrémités de la molécule, ce qui permettrait d'expliquer la bivalence de nombreux anticorps.



A = chaînes lourdes

B = chaînes légères

S = site anticorps

Les chaînes lourdes auraient une participation prédominante dans l'activité et la spécificité de ce site. Les chaînes légères ne contribueraient qu'à son organisation.

En règle générale, les anticorps sont synthétisés par l'organisme après pénétration d'antigènes étrangers. Les modalités de réponse aux stimulations antigéniques sont diverses :

- réponse primaire = apparition d'anticorps chez un animal "neuf" après un temps de latence variable,

- réponse secondaire = réponse accélérée après une seconde injection d'un même antigène,

- hyperimmunisation = concentration maximale d'anticorps obtenue par injections répétées d'antigènes,

- réaction anamnestique = ascension brusque du taux des anticorps après une nouvelle injection d'antigène chez un animal antérieurement immunisé contre cet antigène et dont le taux d'anticorps serait redevenu nul ou très faible,

- tolérance immunitaire = la réaction immunitaire est inhibée, notamment la production d'anticorps. La paralysie immunitaire spécifique et durable est créée par un apport trop important d'antigène.

- METHODES DE MISE EN EVIDENCE DES ANTICORPS UTILISANT LA REACTION ANTIGENE - ANTICORPS :

Une des propriétés fondamentales des molécules d'anticorps est de former des combinaisons spécifiques avec les molécules d'antigènes correspondantes. Cette propriété utilisée par de nombreuses techniques, permet de mettre les différents types d'anticorps en évidence.

- Les réactions de précipitation :

Elles mettent les anticorps précipitants en évidence.

Elles peuvent se faire soit en milieu liquide : test de l'anneau, méthodes quantitatives de RAMON, de DEAN et WEEB , soit en milieux gélifiés. Dans ces dernières méthodes, antigène et anticorps viennent en contact par diffusion dans la gélose. Il se forme une ligne de précipitation pour un rapport convenable entre antigène et anticorps. Ces principes ont été énoncés par OUDIN et nous lui devons la technique de diffusion simple (67).

Actuellement, deux méthodes sont surtout utilisées en laboratoire :

- la technique d'OUCHTERLONY (66). Elle consiste à laisser diffuser pendant 24 heures en atmosphère humide, les antigènes et les anticorps à partir de cuves creusées dans une couche de gélose en boîte de Pétri. Des lignes de précipitation apparaissent entre les cuves contenant des réactifs homologues. S'il y a plus d'un système antigène-anticorps, il se formera autant de lignes qu'il y aura de systèmes. C'est une méthode spécifique d'un grand intérêt pour étudier les réactions croisées.

- l'analyse immuno-électrophorétique a été mise au point en 1953 par GRABAR et WILLIAMS (40). Cette méthode associe sur une même plaque de gélose la double diffusion (OUCHTERLONY) et la séparation électrophorétique. Elle permet de faire dans un premier temps l'électrophorèse en gélose de l'antigène et de laisser diffuser, dans un deuxième temps, le sérum contenant les anticorps. Au point de rencontre antigène-anticorps, il se forme un précipité, sous forme d'arc de cercle, à position bien déterminée, ce qui permettra de l'identifier assez facilement. C'est une méthode sensible et très employée.

- Les réactions d'agglutination :

Elles mettent en évidence les anticorps agglutinants.

Dans ce type de réaction, l'antigène est particulaire : bactéries, hématies... Les molécules d'anticorps s'attachent à ces cellules puis les relient les unes aux autres en formant

des agglutinats. Ils sont visibles au microscope à faible grossissement, à la loupe ou même à l'oeil nu.

De plus en plus on tend à faire ces réactions d'agglutination conditionnées avec un antigène, même soluble, fixé sur des particules inertes telles que les particules de latex.

- Les réactions de neutralisation :

Elles mettent en évidence les anticorps neutralisants en les faisant agir sur une substance antigénique à activité biologique spécifique qu'ils rendent inactive (enzyme - antienzyme).

- Les réactions de sensibilisation cutanée :

Elles sont dues à des anticorps de type réaginique. L'injection intradermique d'extraits parasitaires à un sujet déjà infecté par le parasite provoque une réaction locale de type papule. L'interprétation de cette réaction est très aléatoire: la présence d'un champignon saprophyte peut provoquer un résultat faussement positif.

- L'immunofluorescence :

COONS a décrit cette méthode en 1941. Elle permet de rendre visibles des complexes antigènes-anticorps fixés sur lame au microscope à fond noir avec un éclairage en lumière ultraviolette. Les globulines anticorps sont marquées par des substances fluorescentes telles que l'isothiocyanate de fluorescéine.

- La réaction de fixation du complément :

Elle a été mise au point par BORDET et GENGOU en 1901. Elle comporte deux temps :

- la mise en présence d'un antigène connu avec un sérum immun et du complément. Dans ce premier temps se fait la réaction antigène-anticorps,

- la mise en évidence de la fixation du complément par un système révélateur constitué de globules rouges sensibilisés.

Si l'on observe une hémolyse en fin de réaction, on peut en déduire l'absence d'anticorps; au contraire s'il y a absence d'hémolyse, on peut affirmer la présence d'anticorps.

Cette technique est sensible, délicate et joue un très grand rôle dans le séro-diagnostic des maladies infectieuses, mais elle n'est guère utilisée dans le diagnostic des infections fongiques.

- INTERET DES REACTIONS IMMUNOLOGIQUES DANS LE DIAGNOSTIC DES MYCOSES :

Les mycoses présentent des particularités immunologiques :

- Ce sont des infections en général chroniques et à évolution lente.

- Elles sont provoquées par des champignons doués de propriétés antigéniques. L'organisme répond à cette agression antigénique par la formation d'anticorps circulants et par une réaction d'hypersensibilité de type retardé.

Les deux aspects de la réaction immunitaire ont été envisagée dans le diagnostic biologique de l'Aspergillose.

L'affection étant d'évolution lente, on peut supposer qu'elle crée une allergie au champignon. Cette propriété est utilisée dans l'intradermo-réaction. Or, l'expérience montre que la réaction cutanée à l'antigène aspergillaire est spécifique du champignon mais non de son processus infectieux. Elle est positive chez les sujets porteurs d'Aspergillus à l'état saprophyte. La réaction cutanée n'a plus guère qu'un intérêt historique.

La présence, par contre, d'anticorps circulants, en réponse à l'agression fongique a permis de faire de grands progrès. Cependant les propriétés antigéniques des champignons sont inférieures à celles des bactéries ou des virus et le taux d'anticorps formé est faible. Ces particularités seraient liées, d'après certains auteurs, WINNER en particulier, à la structure de la membrane polysaccharidique et phospholipidique de la cellule fongique (86).

Le champignon provoque la formation d'anticorps chez l'homme, soit par ses protéines somatiques dégradées, soit par ses produits de synthèse (7). La variété des anticorps formés ne sera que le reflet de cette agression polymorphe.

Plusieurs types d'anticorps apparaissent en raison de la complexité antigénique du champignon.

Dans les mycoses profondes, et dans les mycoses bronchopulmonaires en particulier, les réagines apparaîtraient en premier lieu, suivies des agglutinines et des précipitines; les anticorps fixant le complément seraient les derniers à se former et persisteraient le plus longtemps (86).

Il est dès lors logique de s'adresser à différentes techniques immunologiques pour mettre ces anticorps en évidence, et permettre ainsi le diagnostic immunologique des mycoses.

Les méthodes sont basées sur les réactions antigène-anticorps. Les anticorps surtout des précipitines sont présents dans

le sérum du malade mais à un taux faible. Les anticorps seront concentrés dans le sérum avant l'expérience, les antigènes seront préparés à partir du champignon et devront être d'une excellente qualité, afin de permettre la reproductibilité des réactions.

Les fractions antigéniques étant constituées de protéines fragiles, l'emploi dans leur préparation de techniques de conservation par le froid et de lyophilisation permettra d'obtenir des produits spécifiques et de très bonne qualité.

L'utilisation des méthodes d'analyse immunoélectrophorétique et d'immunodiffusion dans le diagnostic des Aspergilloses permet de déceler des anticorps précipitants dans 90 % des cas (8). La description détaillée des techniques et les commentaires des résultats feront l'objet du chapitre suivant.

DESCRIPTION DES METHODES UTILISEES

Pour la recherche des précipitines sériques chez les malades suspects d'Aspergilloses nous avons utilisé les techniques mises au point par l'Ecole Lilloise (6, 10, 36, 37). Nous y avons apporté de légères modifications.

- PREPARATION DES ANTIGENES :

La préparation des antigènes se fait à partir du mycélium du champignon et de son milieu de culture.

Choix des espèces :

L'Aspergillus fumigatus est l'agent pathogène responsable de la majorité des cas d'Aspergilloses et d'Aspergillomes broncho-pulmonaires. Les autres espèces : Aspergillus niger, Aspergillus flavus, Aspergillus nidulans, Aspergillus effusus ne sont rencontrées qu'occasionnellement comme champignon parasite. Nous avons donc choisi l'espèce la plus fréquente, capable de provoquer des Aspergilloses, et nous avons cultivé 4 souches d'Aspergillus fumigatus.

- une souche type Lilloise,
- une variante de cette souche,
- une souche type Anglaise (LONGBOTTOM),
- une variante de cette souche.

Nous avons choisi 4 souches différentes afin d'obtenir le maximum de fractions d'antigènes solubles d'Aspergillus fumigatus.

Culture :

Chaque souche de champignon est cultivée en aérobiose à 25°C sur milieu liquide de SABOURAUD :

Glucose	20 g
Peptone	10 g
Eau .....q.s.p.	1000 ml

Dans chaque bouteille de Roux on met 300 ml environ de bouillon de culture. On les ensemence avec des spores d'Aspergillus fumigatus prélevées à partir d'une culture fraîchement repiquée sur milieu à la carotte. Selon LONGBOTTOM et PEPYS, les cultures produisent un maximum d'antigènes en 3 à 5 semaines à 37°C (55). Dans les cultures d'Aspergillus fumigatus de plus de 6 semaines, se trouve un polysaccharide somatique qui réagit comme la substance C du pneumocoque. Cette substance C peut être à l'origine de fausses réactions positives.

En pratique les extraits antigéniques utilisés varient d'un laboratoire à l'autre. PEPYS prépare ses antigènes à partir d'une culture d'un mois, l'Institut Pasteur de Paris à partir d'une culture de 6 mois, le Centre Médical Marie LANNELONGUE à partir de cultures de 6 jours, l'Ecole Lilloise à partir d'une culture à 25°C de 3 semaines. Pour notre part, nous extrayons les fractions antigéniques de culture à 25°C de 4 à 5 semaines. Une masse mycélienne importante s'est alors formée en surface et le volume du milieu de culture s'est sensiblement réduit.

Préparation des antigènes solubles :

La méthode d'extraction des antigènes solubles, préconisée par l'Ecole Lilloise, est une méthode qualitative et diffère de celles utilisées couramment en chimie biologique. Elle permet d'extraire toutes les fractions antigéniques solubles et limite au maximum leur dégradation et leur dénaturation. Elle est simple et comporte deux étapes essentielles :

- la rupture des cellules par broyage,
- la mise en solution des antigènes solubles.

Deux types d'antigènes sont préparés :

- les antigènes "somatiques" ou "cellulaires", extraits du mycélium,
- les antigènes "métaboliques", extraits du milieu de culture.

1) Les antigènes "somatiques" ou "cellulaires" :

Les mycéliums sont séparés de leurs milieux de culture par filtration sur Buchner à travers deux épaisseurs de papier Whatman n° 1. Les mycéliums sont lavés plusieurs fois à l'eau distillée, puis épongés soigneusement entre plusieurs couches de papier filtre. Séchés, ils sont broyés et homogénéisés dans un homogénéisateur à couteaux, avec de l'eau distillée à raison de 2 volumes pour 1 volume de mycélium à + 4°C durant 5 minutes à 45.000 tours par minute. La suspension obtenue est lyophilisée et constitue l'antigène brut.

La poudre lyophilisée est soumise à un broyage mécanique prolongé dans un mortier en présence de poudre de verre très fine.

Après 1 heure de broyage, le mélange est mis en suspension en volume égal, dans une solution de chlorure de sodium à 1 % , soumis à l'action d'un agitateur magnétique durant une nuit à + 4°C, puis centrifugé toujours à la même température durant une heure à la vitesse de 10.000 tours par minute. On obtient ainsi un surnageant clair. Ce dernier est dialysé contre de l'eau distillée à + 4°C durant une nuit, congelé à - 20°C et lyophilisé. Le produit de lyophilisation constitue l'antigène cellulaire.

2) Les antigènes du milieu de culture ou antigènes "métaboliques" :

Les milieux de culture recueillis après passage sur Buchner sont additionnés de 2 gouttes de toluène pour 1000 ml de liquide pour éviter une contamination bactérienne durant la dialyse.

Ils sont dialysés 1 jour contre de l'eau courante à la température ambiante afin d'éliminer la peptone et le glucose du milieu de culture, puis 3 jours contre de l'eau distillée à + 4°C pour éliminer les sels. Le dialysat est congelé en couche mince à - 20°C et lyophilisé. Il constitue l'antigène appelé "métabolique", par opposition aux antigènes cellulaires. En réalité, il contient les produits du métabolisme d'Aspergillus fumigatus mais également, surtout dans les cultures âgées, des produits de dégradation du champignon en phase de lyse.

3) L'antigène "standard" :

L'antigène "standard" ou l'antigène "mixte" est obtenu par le mélange des deux précédents en parties égales.

Sur la figure 2 se trouve résumé le mode d'extraction des différents antigènes solubles d'Aspergillus fumigatus.

- LES SERUMS ET ANTI-SERUMS :

Le sérum de malades atteints d'Aspergillomes broncho-pulmonaires contient des précipitines à taux faible. Afin de l'enrichir en anticorps, on le concentrera deux fois par lyophilisation et on le remettra en suspension dans de l'eau distillée préparée extemporanément, avant l'analyse.

On peut préparer des anti-sérums en immunisant des lapins par injection hebdomadaire de 20 mg d'extrait antigénique lyophilisé mis en suspension dans le mélange de FREUND. Les immunsérums de bonne qualité sont obtenus après 3 mois d'immunisation et peuvent montrer à l'immunoélectrophorèse 15 à 16 arcs de précipitation.

- TECHNIQUES IMMUNO-CHIMIQUES :

Le diagnostic de l'Aspergillose pulmonaire a largement bénéficié des techniques immunoélectrophorétiques. Elles ont été préconisées conjointement par l'Ecole Londonienne de PEPYS et par BIGUET et ses collaborateurs. Elles permettent de déceler des anticorps précipitants dans 90 % des cas d'Aspergillomes endo-cavitaires (8).

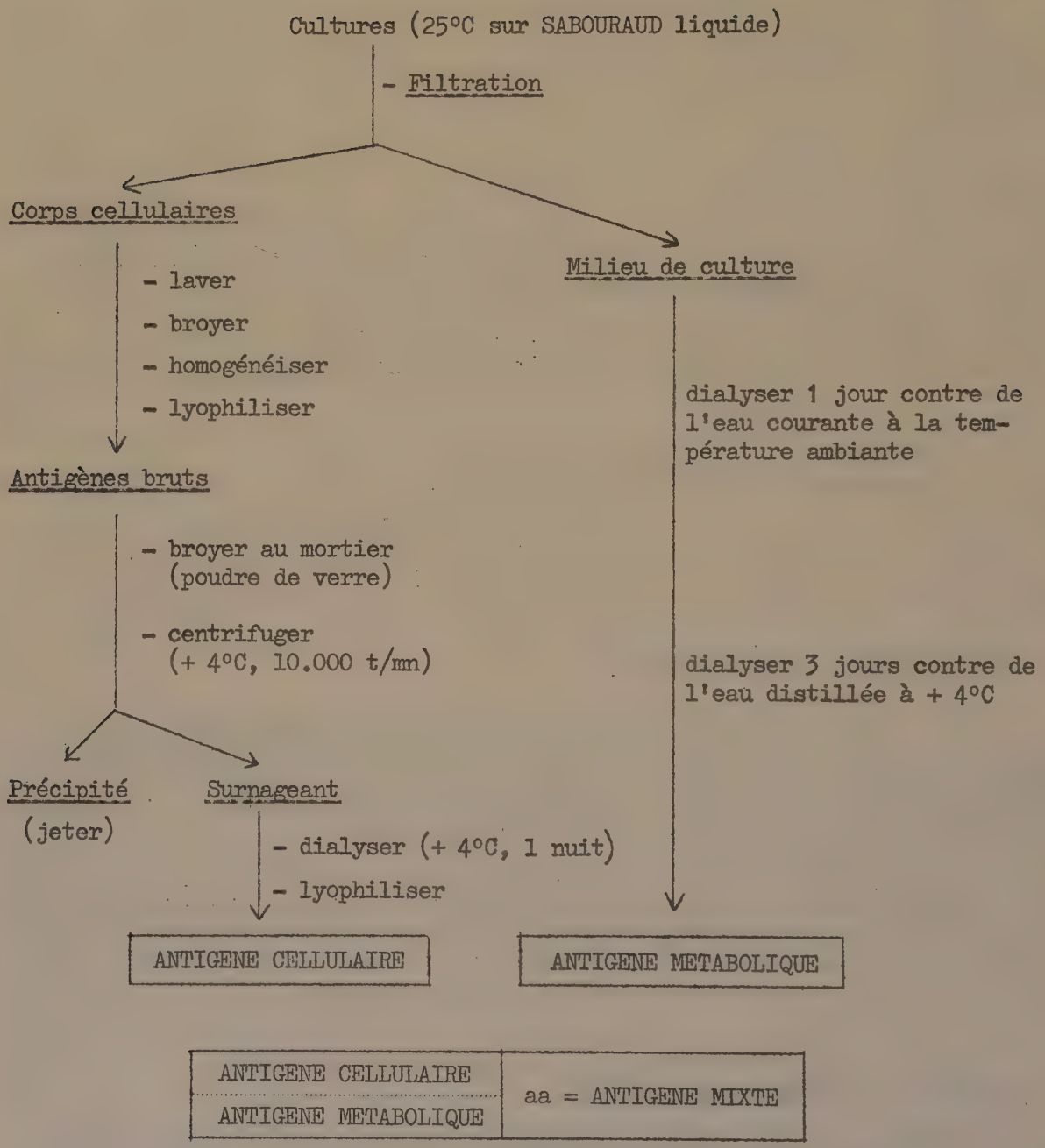

Cultures (25°C sur SABOURAUD liquide)
- Filtration
Corps cellulaires
Milieu de culture
- laver
- broyer
- homogénéiser
- lyophiliser
dialyser 1 jour contre de l'eau courante à la température ambiante
Antigènes bruts
- broyer au mortier (poudre de verre)
- centrifuger (+ 4°C, 10.000 t/mn)
dialyser 3 jours contre de l'eau distillée à + 4°C
Précipité
(jeter)
Surnageant
- dialyser (+ 4°C, 1 nuit)
- lyophiliser
ANTIGENE CELLULAIRE
ANTIGENE METABOLIQUE
ANTIGENE CELLULAIRE
ANTIGENE METABOLIQUE
aa = ANTIGENE MIXTE

Figure 2

Deux réactions de précipitation en gélose sont utilisées systématiquement couplées :

- la réaction d'OUCHTERLONY pour sa simplicité et sa sensibilité,
- l'analyse immunoélectrophorétique pour sa précision et son caractère analytique.

Technique de la double diffusion selon OUCHTERLONY (66) :

Elle consiste à introduire respectivement les antigènes et les anticorps dans des godets creusés à des distances déterminées dans un gel de gélose étalé sur une plaque de verre. Les anticorps et les antigènes diffusent dans le gel et forment des lignes de précipitation à leur point de rencontre.

Nous avons utilisé cette technique en lui apportant quelques légères modifications. Nous avons remplacé la gélose par de l'agarose. Ce dernier produit ne nécessite pas de purification préalable et de plus, semble avoir un pouvoir de résolution supérieur à celui de la gélose (10). Cependant sa préparation est plus délicate : 90 mg d'agarose sont placés dans 10 ml de tampon véronal sodé - HCl à pH = 8,2 ; la suspension est chauffée sous agitation continue sans dépasser 90°C. Cette température doit être maintenue fixe durant la préparation; une température supérieure risquerait d'hydrolyser l'agarose.

La solution ainsi obtenue est coulée sur une lame de microscope de 7,5/2,5 cm préalablement bien dégraissée et nettoyée, afin d'obtenir une couche uniforme de gel de 5 mm d'épaisseur. Une fois le gel pris en masse on découpe à l'emporte pièce un réservoir central de 2 mm de diamètre et des réservoirs périphériques de 2 mm de diamètre distants de 5 mm du godet central. Dans ce dernier, on introduit le sérum à étudier, préalablement concentré deux fois par lyophilisation et remis en solution dans de l'eau distillée (1,5 ml de sérum sont lyophilisés et remis en suspension dans 0,5 ml d'eau distillée). Dans les godets périphériques sont déposés les divers antigènes: antigène "standard", antigène "métabolique", antigène de substance C.

Ces lames sont placées en atmosphère humide à la température du laboratoire durant 24 heures. Les produits, sérum et antigène, diffusent dans le gel et si le sérum contient un anticorps spécifique de l'un des antigènes mis en présence, il se produira une précipitation à l'endroit de leur rencontre sous forme d'une ligne opaque. Cette ligne peut être colorée par l'amidoschwarz après lavage prolongé à l'eau physiologique et déshydratation du gel.

C'est une méthode très sensible qui permet de déterminer très exactement les rapports antigène-anticorps.

Analyse immunoélectrophorétique :

Nous avons suivi la technique originale de GRABAR et WILLIAMS (40) en lui apportant quelques modifications.

Dimension des plaques :

Nous avons utilisé des plaques de verre de 11 x 5 cm recommandées par BIGUET et coll. Elles permettent d'obtenir un bon étalement des fractions antigéniques tout en ne nécessitant qu'un volume réduit de sérum : 0,25 ml .

Le gel support :

Nous utilisons un gel d'agarose identique à celui employé dans la réaction d'OUCHTERLONY.

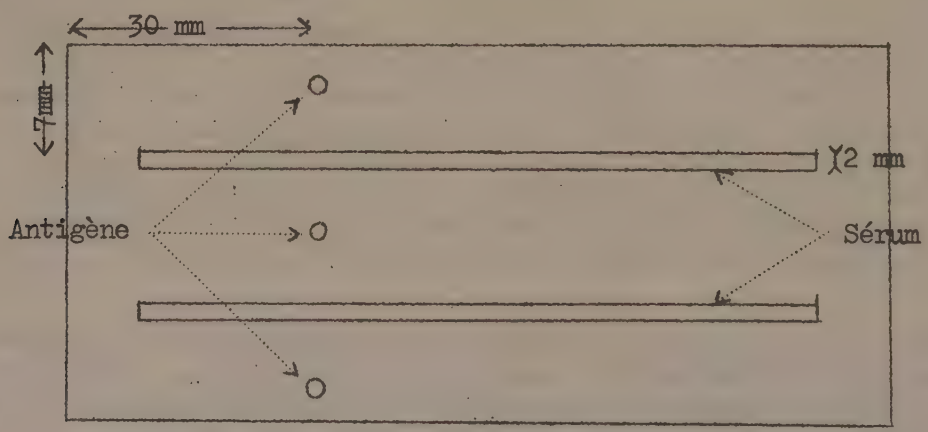
Mode opératoire :

L'immunoélectrophorèse se fait en tampon véronal sodé - HCl à pH = 8,2 de force ionique = 0,1

Véronal sodé	34 g
Acide chlorhydrique N	46 ml
Eau distillée .....q.s.p.	2000 ml

Les lames sont recouvertes d'une couche uniforme de solution d'agarose à raison de 9,5 ml par lame, déposés lentement et régulièrement à la pipette.

Sur l'agarose bien solidifié, on trace 2 rigoles et on creuse 3 godets suivant le modèle ci-dessous :



L'antigène est soumis à l'électrophorèse puis révélé par le sérum du malade. Dans le godet central de la lame on dépose l'antigène mixte concentré à 20 mg dans 0,1 ml d'eau physiologique; dans le godet supérieur et inférieur de la lame, l'antigène métabolique également concentré à 20 mg pour 0,1 ml d'eau physiologique.

On les fait migrer durant 6 heures sous une tension de 20 volts mesurée aux bornes de la lame. La lame est reliée au tampon des cuves par des ponts en papier Whatman n° 1.

En fin d'électrophorèse, les rigoles sont évidées et remplies du sérum du malade concentré 2 fois.

On laisse les produits diffuser et les arcs de précipitation se développer durant 24 heures en chambre humide à la température du laboratoire puis 24 heures à + 4°C.

La première lecture des lames se fait 48 heures après l'électrophorèse. Elle est suivie d'un lavage des lames dans une solution de citrate trisodique à 5 % durant au minimum 1 heure. Cette solution solubilise l'arc aspécifique dû à la fois à la substance C présente dans certains extraits d'Aspergillus fumigatus et aux taux, souvent importants de protéine anti-C présents dans le sérum de malade.

La deuxième lecture se fait après ce lavage. Une dernière lecture se fait après coloration à l'amidoschwarz. Cette coloration est précédée d'un lavage minutieux à l'eau physiologique durant 3 jours, puis d'une déminéralisation et d'une déshydratation du gel.

Ces arcs de précipitation se forment à la rencontre d'une fraction antigénique avec l'anticorps précipitant correspondant. Dans les Aspergilloses, les fractions antigéniques, tant cellulaires que métaboliques d'Aspergillus fumigatus sont révélées par les précipitines sériques du malade. On a pu dénombrer jusqu'à 19 arcs de précipitation.

ANALYSE DES RESULTATS OBTENUS PAR CES METHODES

Les techniques de double diffusion en gélose et d'analyse immunoélectrophorétique que nous venons de décrire dans le chapitre précédent, sont des méthodes très sensibles et spécifiques. Elles permettent de rechercher les précipitines sériques, anti-Aspergillus fumigatus, témoins d'une affection aspergillaire. Elles permettent également d'étudier la structure des fractions antigéniques d'Aspergillus fumigatus.

Dans ce chapitre nous analyserons plus spécialement les résultats obtenus par les méthodes immunologiques dans l'étude:

- d'une part de la structure des antigènes fongiques, qui sont révélés soit par des immunsérums expérimentaux, soit par des sérums de malades au diagnostic confirmé d'Aspergillose,

- d'autre part, des anticorps sériques précipitants et de leur évolution soit au cours de l'immunisation, soit au cours de la maladie chez l'homme.

I - ETUDE DE LA STRUCTURE ANTIGENIQUE DE A. FUMIGATUS :

Les antigènes solubles extraits d'Aspergillus fumigatus ont une structure influencée par divers facteurs tels que les conditions de culture, l'espèce, et contiennent des substances aspécifiques, dont il faudra tenir compte dans l'interprétation des résultats.

1) Influence des conditions de culture :

L'influence des conditions de culture : milieu, âge, température, sur la structure des antigènes cellulaires et métaboliques de différentes souches d'Aspergillus fumigatus a été plus spécialement étudiée par BIGUET et son école (10). Cette structure a été déterminée par immunoélectrophorèse des antigènes, révélés par des immunsérums expérimentaux de lapin.

L'origine différente des souches d'Aspergillus fumigatus n'intervient pas de façon notable, si ce n'est dans les dates d'apparition des différentes fractions antigéniques.

La température de culture ne semble pas influencer la composition définitive des deux extraits antigéniques.

Par contre, l'âge de la culture joue un très grand rôle et la composition des antigènes métaboliques et cellulaires en dépend. Le tableau suivant, publié par BIGUET et coll. (10) montre que les 2 antigènes s'enrichissent en fractions avec le temps.

Milieu de culture	Antigène	Nb.de fractions antigéniques		
		15 jours	30 jours	40 jours
SABOURAUD 37°C	Cellulaire	13	16	16
	Métabolique	12	13	15
CZAPEK 37°C	Cellulaire	8	16	16
	Métabolique	6	13	15

L'augmentation du nombre des fractions de l'antigène cellulaire dépend vraisemblablement de la dégénérescence d'une partie du mycélium.

La modification de l'antigène métabolique, semble liée à l'accumulation des produits de métabolisme excrétés et à la lyse des cellules altérées.

On note également sur ce tableau une assez grande différence entre le nombre de fractions antigéniques extraites des cultures sur milieu de Sabouraud et le nombre de celles extraites des cultures sur milieu de Czapek. Cette différence est particulièrement nette dans les premiers jours des cultures et semble dépendre de la pousse du champignon sur les 2 milieux.

Le champignon prolifère plus rapidement sur milieu de Sabouraud. Cependant cette différence n'est plus notable après 40 jours.

Les antigènes cellulaires et métaboliques d'une culture de 40 jours ont sensiblement le même nombre de fractions. Ces fractions d'origine différente sont antigéniquement identiques, l'emploi de sérums absorbés l'a démontré. On s'est demandé si ces 2 antigènes partageaient, avec leur communauté antigénique, une même structure chimique. Les travaux de BIGUET et coll. ont montré que ces fractions étaient égales en nombre, immunologiquement identiques mais de structure chimique très différente. Les résultats des dosages chimiques sont extraits de la publication de BIGUET et coll. (10).

Antigènes Aspergillus fumigatus	Protéines exprimées en poids d'azote	Hexoses	Lipides
Cellulaire	6,02 %	12 %	1,25 %
Métabolique	17,82 %	6 %	0,50 %

Ce dernier tableau montre la grande différence de structure chimique entre les fractions antigéniques d'origine cellu-

laires et celles d'origine "métaboliques". Ces fractions ne conservent en commun que leur réactivité antigénique.

2) Parenté antigénique entre les différentes espèces d'Aspergillus :

Les fractions antigéniques d'Aspergillus fumigatus extraites du mycélium et du milieu de culture du champignon ont une composition chimique très différente mais partagent leurs propriétés immunologiques.

On peut se demander si ces propriétés immunologiques sont communes à tous les Aspergillus ou spécifiques d'Aspergillus fumigatus.

L'analyse immunoélectrophorétique et la réaction d'Ouchterlony ont permis d'étudier les réactions croisées entre les antigènes extraits des diverses espèces d'Aspergillus.

Les antigènes d'Aspergillus fumigatus révélés par un immunsérum antifumigatus montrent 16 arcs de précipitation.

Les antigènes d'Aspergillus flavus cultivé dans les mêmes conditions, et révélés par le même immunsérum antifumigatus ne montrent que 2 arcs de précipitation.

Il en est de même pour Aspergillus niger et les autres espèces d'Aspergillus étudiés. Nous résumons dans le tableau suivant les communautés antigéniques de 6 espèces d'Aspergillus. Ce travail a été publié par l'Ecole Lilloise (11) cf. tableau II.

ANTIGENES	SERUMS DE LAPIN ANTI :					
Espèces types : Groupes Aspergillus	A.FUMIGATUS	A.RESTRICTUS	A.FLAVUS	A.NIDULANS	A.TERREUS	A.NIGER
A.FUMIGATUS	16	2	2	2	1	2
A.RESTRICTUS	1	15	1	2	1	1
A.FLAVUS	2	2	18	2	2	2
A.NIDULANS	2	2	1	16	2	2
A.TERREUS	1	1	1	2	15	1
A.NIGER	2	1	2	2	1	16

Tableau II

Communautés antigéniques de 6 espèces d'Aspergillus appréciées par 6 immunsérums expérimentaux correspondants (J.BIGUET et coll.).

Cette étude montre le petit nombre de fractions antigéniques communes à Aspergillus fumigatus et aux autres Aspergillus. Cette communauté se résume à 1 à 2 fractions. La fraction commune à tous les Aspergillus se retrouve également dans les antigènes de Mucor Mucedo, de trois pénicillium et d'Epidermophyton floccosum (10) et n'est donc pas spécifique de l'espèce étudiée.

Des résultats identiques sont obtenus en révélant ces mêmes antigènes par des sérums de malades atteints d'Aspergillome broncho-pulmonaire confirmé. On peut donc en déduire :

- que la majorité des arcs de précipitation obtenus par révélation de l'antigène Aspergillus fumigatus par l'immunsérum antifumigatus sont spécifiques de l'espèce,

- qu'à partir de 3 ou 4 traits de précipitation la réaction est spécifique,

- que, pour une espèce donnée, les immunoélectrophorégrammes sont caractéristiques et reproductibles.

L'analyse comparée des structures antigéniques des champignons sera donc d'un grand intérêt en deux domaines très distincts : d'une part dans la systématique des espèces, d'autre part dans le diagnostic immunologique de la mycose et de l'espèce fongique incriminée.

3) Etude d'une substance de type C dans les antigènes Aspergillus fumigatus :

LONGBOTTOM et PEPYS (55) ont montré que certains antigènes d'Aspergillus fumigatus contenaient une substance de type C. Cette substance mise en contact avec certains sérums peut provoquer la formation d'arcs de précipitation non spécifiques et induire ainsi de fausses réactions positives.

Elle s'est montrée identique au polysaccharide C du Pneumocoque, ce qui a permis à PEPYS d'affirmer que "Aspergillus fumigatus possède la substance polysaccharidique C du Pneumocoque".

BIGUET et son école ont entrepris sa recherche systématique dans les antigènes fongiques et sa localisation dans les immunoélectrophorégrammes (10).

Ils l'ont retrouvée dans les antigènes d'Aspergillus fumigatus, Aspergillus fischeri, Aspergillus restrictus, Aspergillus pseudoglaucus, Aspergillus repens, Aspergillus effusus, Aspergillus versicolor, Aspergillus nidulans, Aspergillus niger, Aspergillus terreus, Epidermophyton floccosum, Trichophyton soudanense, ctenomyces mentagrophites. Elle est présente dans tous

les extraits d'Aspergillus à l'exception d'Aspergillus flavus et dans les extraits de dermatophytes.

Elle apparaît dans le milieu de culture vers le quinzième jour et on la met en évidence dans l'antigène cellulaire dès le treizième jour.

Cette substance C mise en contact avec les sérums de sujets atteints de maladies infectieuses diverses provoque la formation d'un précipité. La protéine sérique responsable de cette réaction s'appelle protéine anti C ou C.R.P. La C.R.P. est présente dans le sérum de malades à réactions inflammatoires, nécrosantes ou agressives. Ces réactions accompagnent souvent les phases d'invasion parasitaire mais ne sont pas spécifiques.

L'Ecole Lilloise a essayé de localiser cette substance C dans le tracé immunoélectrophorétique. A cette fin les antigènes d'Aspergillus fumigatus ont été révélés par des sérums contenant cette protéine C : sérums PC + . Cette substance C correspond à l'arc C des immunoélectrophorégrammes obtenus avec les sérums de malades atteints d'Aspergillomes pulmonaires. Cette identité antigénique a été démontrée par l'emploi de la technique immunoélectrophorétique en "fente courte" (cf. figure n° 3).

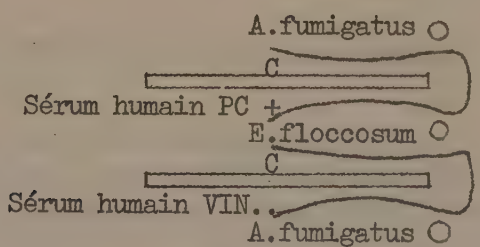


Figure 3

Localisation immunoélectrophorétique des substances C révélées par les sérums PC positifs (J.BIGUET et coll.)

Cette substance C forme un précipité relativement précoce avec les sérums PC + .

Ce précipité est soluble dans le citrate de sodium à 5 %. Cette propriété est utilisée en laboratoire pour éliminer l'arc aspécifique dû à sa présence.

Si plusieurs arcs de précipitation apparaissent sur une lame au cours d'une recherche de précipitines sériques anti-Aspergillus fumigatus, on soumet cette dernière à une incubation dans une solution de citrate trisodique. Cette précaution permet d'éliminer les fausses réactions liées à la présence, d'une part

de la substance C dans l'antigène, d'autre part de la "C reactiv protein" fréquente dans le sérum de sujets atteints d'Aspergillome.

Dans tous les cas suspects d'Aspergillome, nous faisons systématiquement une recherche de la C.R.P. sérique par la réaction d'OUCHTERLONY.

Les méthodes immunologiques permettent donc d'étudier la structure de l'antigène tant cellulaire que métabolique d'Aspergillus fumigatus, de reconnaître les fractions spécifiques des fractions aspécifiques et de vérifier sa qualité lors de sa préparation. Il est indispensable de contrôler l'antigène avant son emploi par une immunoélectrophorèse avec un immunsérum expérimental. La reproduction du tracé type, montre que l'antigène n'a pas été altéré durant son extraction. Cet antigène ainsi testé, permettra d'étudier les anticorps des immunsérums expérimentaux et des sérums de malades atteints d'Aspergillome.

II - ETUDE DES PRECIPITINES DES IMMUNSERUMS :

Les immunsérums sont obtenus par injection à un lapin des antigènes d'Aspergillus fumigatus. On suit l'immunisation de ce dernier par des contrôles immunoélectrophorétiques. On pourra ainsi étudier d'une part leur localisation dans les immunoglobulines, d'autre part leur ordre d'apparition.

1) Localisation des précipitines dans les immunoglobulines :

C'est TRAN VAN KY et ses collaborateurs de l'Ecole Lilloise qui ont entrepris en 1966 de localiser les précipitines sériques des lapins soumis à une hyperimmunisation expérimentale de 3 mois contre Aspergillus fumigatus (95). Ils ont fractionné les globulines sériques, supports de l'activité anticorpale et ont isolé d'une part les gamma G globulines par chromatographie sur D E A E. cellulose, les gamma M globulines, d'autre part, par chromatographie de filtration sur gel de séphadex G 200. Ils ont ainsi pu constater que les précipitines se répartissaient inégalement dans les gamma G et les gamma M globulines. Ils ont examiné deux lots de lapins hyperimmunisés. Dans le premier lot, 16 fractions antigéniques ont été révélées par le sérum entier, alors que la fraction sérique isolée gamma G en révélait 16 et la fraction isolée gamma M 4. Dans le deuxième lot, 19 fractions antigéniques ont été révélées par le sérum entier, 19 par les gamma G isolées et 4 par les gamma M. Ces résultats sont illustrés sur la figure n° 4.

La somme des précipitines anti-Aspergillus fumigatus localisées dans les immunoglobulines isolées est supérieure au nombre des précipitines sériques révélées par le sérum entier. Ces faits

laissent à penser que les précipitines gamma M partagent la même fraction antigénique avec certaines précipitines gamma G et se confondent en un même arc de précipitation lors de l'analyse par un sérum entier.

Cette hypothèse a été confirmée par la réaction d'OUCHTERLONY.

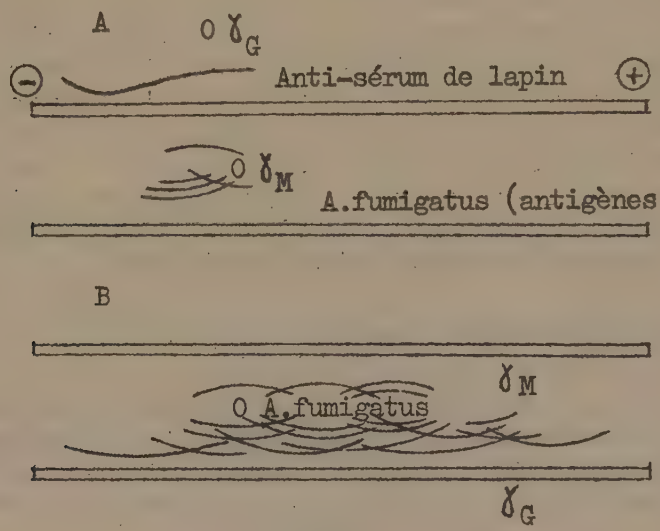


Figure 4

A) Localisation des précipitines au niveau des immunoglobulines "γ_M" des sérums de lapins hyperimmunisés. - B) Identification immunoélectrophorétique des précipitines des mêmes sérums de lapins au sein des immunoglobulines γ_M et γ_G (BIGUET et coll.).

2) Ordre d'apparition des précipitines :

Ce sont les mêmes auteurs qui ont étudié l'ordre d'apparition des anticorps anti Aspergillus fumigatus en fonction du temps, chez un lapin immunisé avec les antigènes homologues (12, 95).

Ils ont injecté d'une part des antigènes cellulaires, d'autre part des antigènes métaboliques et ont observé la formation des anticorps anti antigène cellulaire et anti antigène métabolique par immunoélectrophorèse. Les résultats sont reproduits sur la figure n° 5.

Les premiers anticorps apparaissent après une immunisation de 4 semaines. L'antigène cellulaire est un peu plus antigénique que l'antigène métabolique, mais après 12 semaines d'immu-

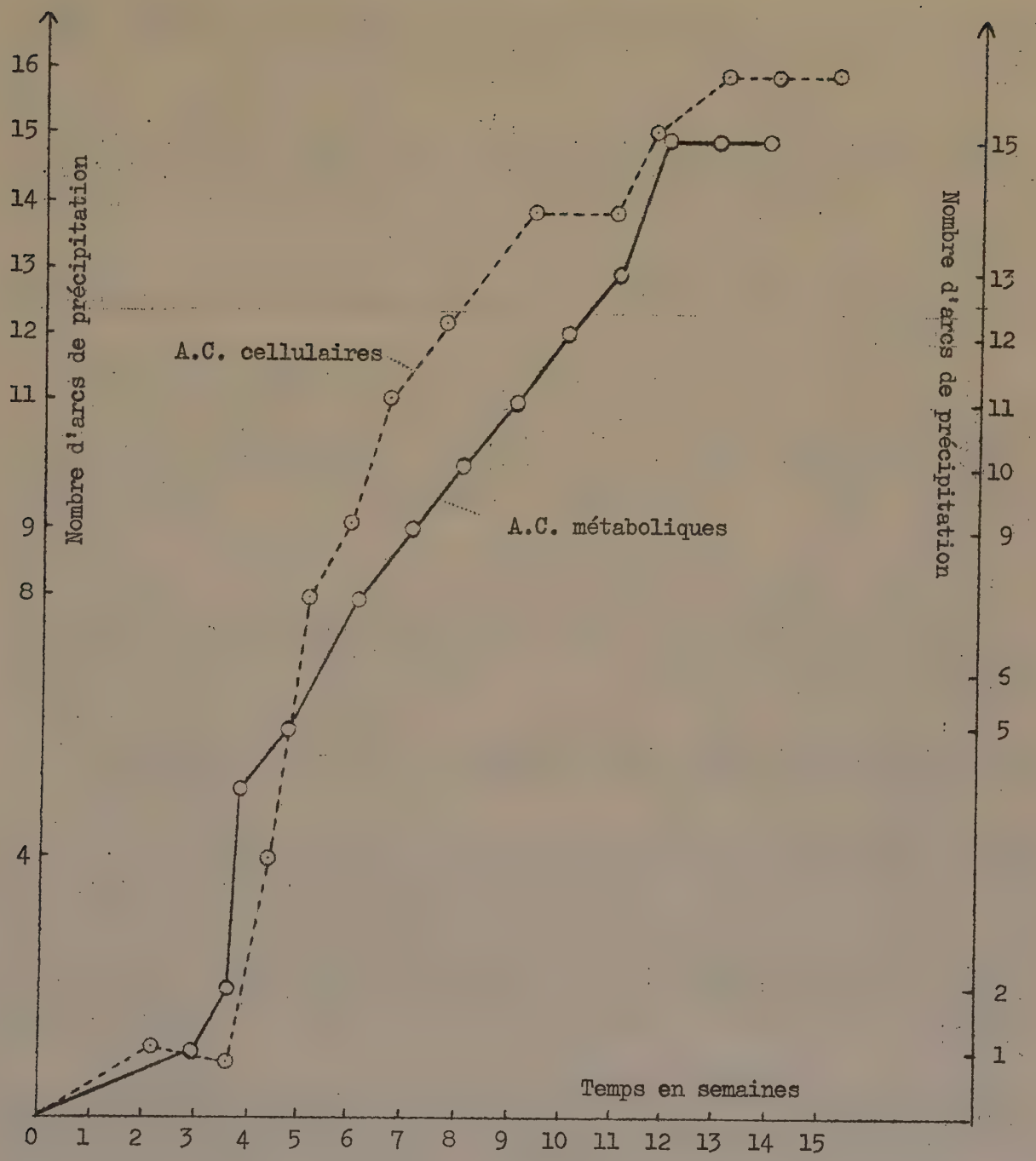


Figure 5

Apparition des anticorps anti-Aspergillus fumigatus, dans le temps, chez le lapin immunisé. (Thèse ROUSSEL).

nisation, les deux provoquent la formation du même nombre d'anticorps. Les fractions antigéniques d'Aspergillus fumigatus révélées en immunoélectrophorèse par les sérums de lapin immunisé depuis 12 semaines montrent 15 arcs de précipitation.

De ces expériences sur le lapin, on peut conclure : que les précipitines, sont principalement des gamma G globulines, et que les antigènes tant métaboliques que cellulaires, injectés à un lapin, fournissent des immunsérums très riches en anticorps.

III - ETUDE DES PRECIPITINES ANTI-ASPERGILLAIRES DANS LE SERUM HUMAIN :

La technique de choix, préconisée par l'Ecole Londonienne et l'Ecole Lilloise pour la recherche des précipitines sériques, est l'immunoélectrophorèse. Cette technique a été appliquée comparativement à des sérums de sujets sains et à des sérums de malades au diagnostic d'Aspergillome pulmonaire confirmé.

Etude des sérums de sujets sains

Cette technique d'analyse immunoélectrophorétique et la réaction de double diffusion ont été appliquées à des sérums de sujets sains.

N'DRI ASSALE (65) a recherché sans succès des précipitines sériques anti-Aspergillus flavus et anti-Aspergillus fumigatus dans 25 sérums de sujets sains.

DROUHET (29) et BIGUET (11) ont étudié les sérums de sujets atteints d'affections pulmonaires non aspergillaires.

Dans 22 affections pulmonaires, DROUHET n'a mis en évidence aucune précipitine sérique anti-aspergillaire.

BIGUET et son école, dans une étude systématique chez 179 sujets atteints d'affections pulmonaires diverses non aspergillaires, ont trouvé les résultats qui figurent sur le tableau suivant :

Nombre de malades	Crachats	Ouchterlony	Immunoélectrophorèse
34	Aspergillus +	16 fois +	Ø arcs
145	Ø	39 fois +	Ø arcs

De ces divers résultats on peut déduire :

- que la découverte d'Aspergillus fumigatus dans les crachats n'est pas pathognomonique de la mycose,

- que les réactions d'OUCHTERLONY sont trop sensibles et donnent des erreurs par excès. Ces données cependant n'ont pas été confirmées par notre travail. Nous n'avons noté aucune discordance entre les résultats des réactions d'OUCHTERLONY et ceux des analyses immunoélectrophorétiques,

- que la méthode immunoélectrophorétique est la plus spécifique. Elle ne met en évidence des précipitines sériques que chez un sujet ayant été en contact avec un antigène aspergillaires.

Etude des sérums de sujets atteints d'Aspergillomes broncho-pulmonaires

Cette technique immunoélectrophorétique appliquée à des sérums de sujets atteints d'Aspergillomes broncho-pulmonaires met en évidence des précipitines sériques.

Nous étudierons la localisation de ces précipitines anti-Aspergillus fumigatus dans les immunoglobulines des malades, la localisation et la fréquence des arcs de précipitation produits par le sérum des malades en contact avec l'antigène Aspergillus fumigatus, l'activité enzymatique supportée par ces arcs, et enfin le comportement de ces précipitines durant la maladie et son traitement.

1) <u>Localisation des précipitines dans les globulines des malades</u> :

Les mycoses montrent le plus souvent de légères modifications du protéinogramme sérique chez le malade. L'augmentation des gamma G est pratiquement constante.

TRAN VAN KY et l'Ecole Lilloise ont donc essayé de localiser la place des précipitines sériques anti-Aspergillus fumigatus dans les immunoglobulines de malades atteints d'Aspergillome pulmonaire (96).

Les globulines sériques ont été fractionnées et les gamma G isolées par chromatographie sur D.E.A.E. cellulose. Les gamma M globulines ont été séparées des autres globulines sériques par chromatographie de filtration sur gel de Séphadex G 200.

Les gamma G et gamma M globulines ainsi isolées, ont montré que la majorité des précipitines se situaient dans la fraction gamma G. Une seule précipitine de type gamma M a été identifiée dans 3 des 6 sérums étudiés. Sur le tableau suivant se trouvent résumés les résultats obtenus par TRAN VAN KY et ses collaborateurs.

Sérums étudiés	Nombre de fractions antigéniques Aspergillus fumigatus révélées par		
	Sérum entier	Fractions sériques	
		gamma G	gamma M
WIN...	13	13	1
LET...	10	10	1
PYP...	4	4	1
DUF...	7	7	0
VAL...	12	12	0
MOL...	11	11	0

On voit ainsi que la totalité des précipitines isolées dans le sérum entier se retrouve dans la fraction gamma G avec dans 50 % des cas, une précipitine supplémentaire dans la fraction gamma M. D'après les auteurs il semble que cette précipitine gamma M concerne les mêmes fractions antigéniques que certaines précipitines gamma G, et que, de ce fait, elle soit masquée sur le tracé immunoélectrophorétique de l'antigène révélé par le sérum entier (cf. figure n° 6).

2) Localisation et fréquence des arcs sur le tracé électrophorétique :

L'immunoélectrophorèse de l'antigène Aspergillus fumigatus révélé par un sérum de malade atteint de mycétone aspergillaire, montre un certain nombre d'arcs de précipitation.

Le nombre de ces arcs varie d'un malade à un autre et n'est pas proportionnel à l'importance de la lésion clinique.

L'immunoélectrophorèse peut mettre en évidence jusqu'à 18 et même 20 arcs de précipitation (la figure n° 7 montre le tracé d'un sérum révélant 20 arcs).

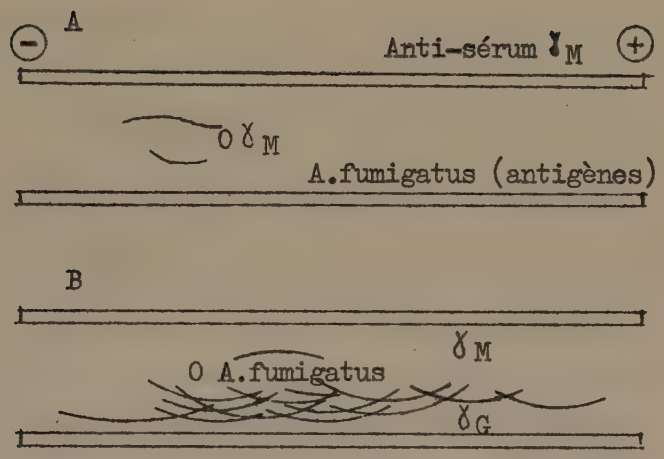


Figure 6

A) Localisation des précipitines au niveau des immunoglobulines γM du sérum du malade Win... - B) Identification immunoélectrophorétique des précipitines au sein des immunoglobulines γM et γG du même patient. (TRAN VAN KY et coll.).

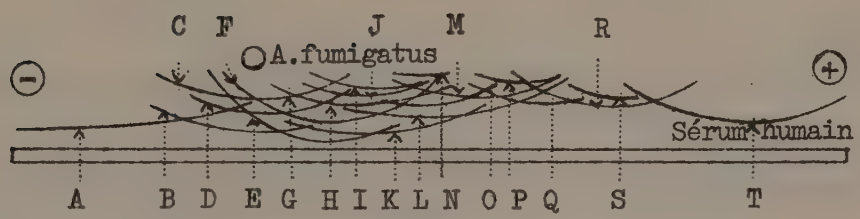


Figure 7

Diagramme immunoélectrophorétique d'un sérum révélant 20 arcs de précipitation (TRAN VAN KY et coll.).

Ces 20 arcs représentent la précipitation de 20 fractions antigéniques d'Aspergillus fumigatus par 20 précipitines sériques correspondantes.

L'Ecole Lilloise a désigné chaque arc d'une lettre majuscule (93).

- Identification et fréquence des précipitines :

Pour étudier la fréquence de ces arcs de précipitation, TRAN VAN KY et ses collaborateurs (93) ont sélectionné 100 sérums de malades atteints d'Aspergillome. Ils les ont analysés par immunoélectrophorèse et les tracés obtenus ont mis en évidence 4 précipitines sériques privilégiées par leur fréquence (figure n° 8).

. l'arc C ou la précipitine C a été retrouvée 100 fois
. l'arc J " J " 96 fois
. l'arc M " M " 74 fois
. l'arc F " F " 65 fois

Les autres précipitines ont été trouvées à une fréquence moindre.

Ces 4 précipitines sont très fréquentes et toujours présentes dans les sérums qui contiennent plus de 5 précipitines décelables par la technique.

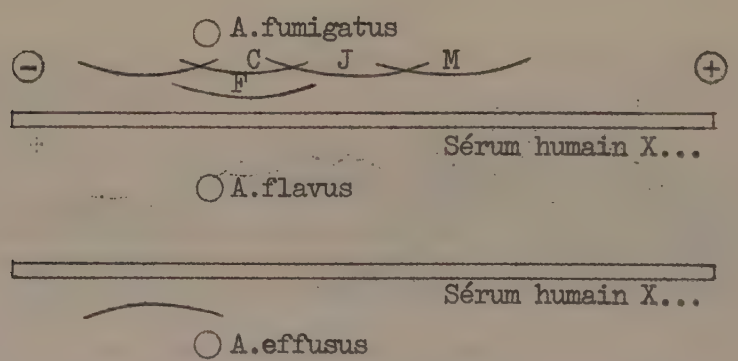


Figure 8

Diagrammes immunoélectrophorétiques du sérum d'un patient révélant 5 précipitines anti-Aspergillus fumigatus dont 4 privilégiées et spécifiques : C, J, M et F et 1 commune avec Aspergillus effusus (Thèse ROUSSEL).

- Spécificité des précipitines C, J, M, F :

Les auteurs ont également recherché la spécificité de ces précipitines. Ils ont fait agir les sérums contenant ces 4 précipitines contre des extraits fongiques autres qu'Aspergillus fumigatus. Aucun arc de précipitation n'a été décelé lorsqu'on a opposé des sérums de malades qui ne contenaient que les 4 précipitines correspondantes (soit en réaction d'OUCHTERLONY, soit en immunoélectrophorèse), à divers Aspergillus et à d'autres extraits fongiques (93).

Ces expériences permettent de conclure que ces 4 précipitines sont spécifiques d'Aspergillus fumigatus.

3) Caractérisation enzymatique des fractions antigènes :

Depuis 1966, l'Ecole Lilloise s'intéresse à l'activité enzymatique supportée par ces arcs de précipitation (13, 94, 96).

Les auteurs appliquent aux fractions antigéniques d'Aspergillus fumigatus isolées par immunoélectrophorèse et réaction d'OUCHTERLONY et précipitées par un sérum de sujet atteint d'Aspergillose, les méthodes de caractérisation enzymatique préconisées par URIEL.

Ils ont pu ainsi mettre en évidence 18 types d'activités enzymatiques (cf. figure n° 9).

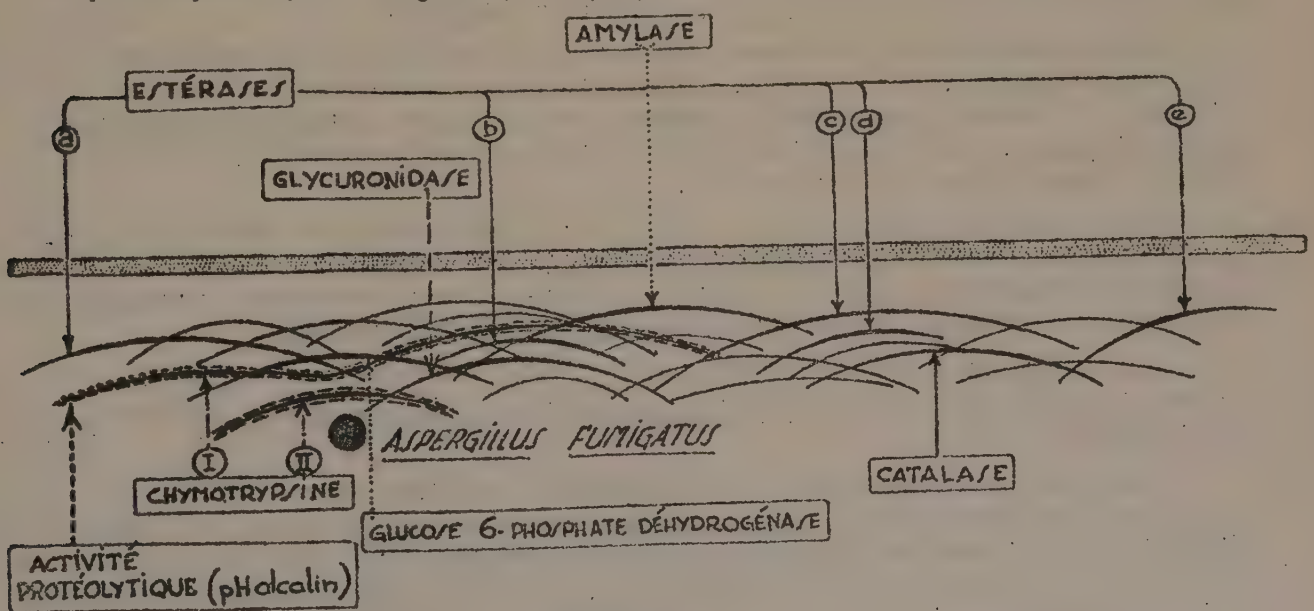


Figure 9

Immunoélectrophorégramme de l'extrait antigénique Aspergillus fumigatus révélé par un immunsérum homologue. Les complexes enzymes-antienzymes sont représentés par des arcs plus épais. (TRAN VAN KY et coll.).

Parmi ces nombreux types d'activité enzymatique, les auteurs ont localisé une activité chymotrypsique au niveau de deux complexes enzymes-anticorps. L'un des complexes enzyme-anticorps est représenté par l'arc C, révélé dans tous les cas d'Aspergillomes s'accompagnant de production de précipitines sériques. L'arc J, retrouvé 96 fois dans l'étude de 100 sérums d'Aspergillose, supporte une activité catalasique.

La localisation de cette activité chymotrypsique et catalasique supportée par 2 arcs de précipitation spécifiques et remarquables par leur constance, est d'un grand intérêt dans le diagnostic immunologique de l'Aspergillose.

Cette caractérisation enzymatique par une technique relativement aisée est indispensable lorsque les sérums étudiés renferment un très petit nombre de systèmes précipitants non spécifiques par eux-mêmes d'une atteinte aspergillaire (2 à 3 arcs) (39).

4) Etude des anticorps au cours de la maladie :

Lors d'un Aspergillome broncho-pulmonaire, l'élaboration des précipitines est assez importante, et il semble qu'en règle générale, dans toute affection parasitaire, en phase d'invasion, les réactions de l'organisme soient dirigées contre les fractions antigéniques très spécifiques de l'agent pathogène. Ce fait se vérifie dans l'Aspergillome.

Chez le lapin, au cours de l'hyperimmunisation provoquée, les fractions C, J, M et F, apparaissent en premier. Chez l'homme il semble en être de même. En suivant l'évolution d'un Aspergillome, les fractions spécifiques C, J, M et F, sont mises les premières en évidence.

En phase évolutive, le sérum d'un malade peut révéler jusqu'à 20 arcs en immunoélectrophorèse. Le nombre de ces arcs n'est pas fonction de la lésion clinique mais traduit l'importance de la réaction de l'organisme à cet antigène.

La variation du nombre de ces arcs peut être d'un très grand intérêt dans la surveillance d'un traitement et de son efficacité.

Lors de l'évolution d'un Aspergillome broncho-pulmonaire on peut assister à une progression du nombre des arcs de précipitation à l'analyse immunoélectrophorétique, à une stabilisation de ce nombre, à sa diminution, et à son annulation après l'instauration d'un traitement efficace à l'Amphotéricine B "in situ". ROEGEL (84) publie un cas, où à la suite d'une série de 5 injections endo-bronchiques bihebdomadaires d'Amphotéricine B, il obtient l'élimination progressive et complète d'un

Aspergillome pleuro-pulmonaire sanctionnée par la négativation au bout d'un an de l'examen immunoélectrophorétique du sérum du malade.

Cette recherche de précipitines sériques permet également de vérifier l'efficacité d'une intervention chirurgicale.

Une exérèse de la truffe aspergillaire, si elle est complète, amène la négativation des réactions immunologiques après un temps assez long (6 à 12 mois généralement). La persistance prolongée de précipitines sériques signe une autre localisation ou une récidive (23, 77, 81).

En conclusion, les résultats obtenus par les méthodes immunologiques sont d'une très grande importance. Elles ont permis de connaître la structure antigénique de certains champignons et, ainsi, de confirmer les données de la systématique. Mais leur plus grand intérêt réside dans le diagnostic biologique de l'Aspergillose dans ses formes classiques et surtout dans ses formes atypiques. La découverte d'arcs de précipitation spécifiques au cours de l'immunoélectrophorèse, permet d'affirmer que l'organisme a été en contact avec un antigène aspergillaire contre lequel il a réagi. Cependant une grande prudence doit présider à l'interprétation des résultats qui doivent toujours être confrontés avec les données cliniques et radiologiques.

L'absence de précipitines sériques n'élimine pas complètement la possibilité d'un Aspergillome (23). Mais ce sont des cas exceptionnels et le plus souvent la recherche de précipitines sériques s'avère être un examen capital pour poser le diagnostic d'Aspergillose broncho-pulmonaire.

TROISIEME PARTIE

La dernière partie de notre travail est consacrée à nos résultats et à leur discussion.

Depuis Octobre 1966, nous avons recherché les précipitines anti-Aspergillus fumigatus dans 120 sérums de malades suspects d'Aspergillose.

Nous faisons cette recherche, par la méthode d'Ouchterlony et par l'analyse immunoélectrophorétique, que nous pratiquons simultanément.

Nous suivrons les techniques que nous avons décrites antérieurement. Les antigènes utilisés sont :

- dans la réaction d'Ouchterlony : l'antigène standard (cf. page 49), l'antigène métabolique (cf. page 49), et la protéine C ;
- dans l'analyse immunoélectrophorétique : l'antigène métabolique (que nous plaçons dans les godets supérieurs et inférieurs de la plaque); l'antigène mixte (déposé dans le godet central) (cf. page 49).

Les fractions antigéniques solubles d'Aspergillus fumigatus sont révélées par les anticorps contenus dans le sérum des malades. Ce sérum a été préalablement concentré 2 fois par lyophilisation, puis remis en suspension dans l'eau distillée.

Ces deux méthodes utilisées simultanément nous permettent, l'une par sa sensibilité, l'autre par son pouvoir analytique de rechercher et d'identifier les précipitines.

Afin de simplifier l'interprétation des résultats, nous faisons systématiquement une recherche de protéine anti C dans les sérums à étudier.

Dans l'analyse de ces résultats nous énumérerons d'abord les recherches faites durant ces deux ans dans notre laboratoire, nous les discuterons, puis nous étudierons plus particulièrement les cas d'Aspergillomes. Dans l'étude des 120 sérums, nous avons détecté 24 sérums contenant des précipitines sériques anti-Aspergillus fumigatus.

RESULTATS PERSONNELS

Nous reportons globalement nos résultats dans le tableau suivant.

Ils sont classés par ordre alphabétique suivant le nom du malade et, pour un même malade, par ordre chronologique de la date des différents examens.

Abréviations utilisées :

- C.R.P. : C Reactiv - Protein

Obs. n° : Observation clinique résumée dans le chapitre suivant.

N°	NOMS	SERVICE	C.R.P.	OUCHTERLONY	IMMUNOELECTROPHORESE
1	AR... Lakledar	St. François	++	ø	ø
2	AU... Yves	St. François	ø	ø	ø
3	BA... Emile	Laennec	+	ø	ø
4	BA... Frédéric	Laennec	+	ø	ø
5	BA... Joseph	Laennec	+++	ø	ø
6	BA... Etienne	Chirurgicale A	+++	ø	ø
7	BA... Jules	Médicale B	+++	ø	ø
8	BA... Jules	Laennec	ø	ø	ø
9	BA... Alphonse	Chirurgicale B	ø	ø	ø
10	BE... Emile	Saales	+++	ø	ø
11	BI... Louis	Mulhouse	+++	ø	ø
12	BI... Jacqueline (Obs. n° 8)	St. François	+	+	9 arcs
13	BL... Alfred	Laennec	+++	ø	ø
14	BO... Suzanne	St. François	ø	ø	ø
15	BU... François	Laennec	+	ø	ø
16	BU... Paul	St. François	++	ø	ø
17	BU... Pascal	Laennec	+++	ø	ø
18	CL... Salomé	Médicale C	ø	ø	ø
19	CO... Jean	Médicale C	+++	ø	ø
20	DA... André	Laennec	+++	+	5 arcs

N°	NOMS	SERVICE	C.R.P.	OUCHTERLONY	IMMUNOELECTROPHORESE
21	DA... André (Obs. n° 1)	Laennec	+	ø	ø
22	DE... Germain	Laennec	+++	ø	ø
23	DI... Salomé	Laennec	ø	ø	ø
24	DO... Eugénie	St. François	ø	ø	ø
25	DO... Caroline (Obs. n° 9)	St. François	++	+	9 arcs
26	DR... Charles	Laennec	+++	ø	ø
27	ED... Rosalie	Médicale C	ø	ø	ø
28	EP... Joseph	Chirurgicale B	ø	ø	ø
29	ER... Marie	Stephansfeld	ø	ø	ø
30	ES... Eugène	Mulhouse	+++	ø	ø
31	GE... Alfred	Chirurgicale B	ø	ø	ø
32	GI... Cécile	Médicale D	+++	ø	ø
33	GR... Victor	St. François	ø	ø	ø
34	GR... Victor	Laennec	ø	ø	ø
35	GU... André (Obs. n° 2)	Laennec	++	+	7 arcs
36	HA... Ernest	Laennec	+	ø	ø
37	HA... Frieda	Médicale A	ø	ø	ø
38	HA... Albert	Laennec	ø	ø	ø
39	HA... Lucien	Saales	ø	ø	ø
40	HA... Hocine	Médicale B	+++	ø	ø
41	HA... Aloyse	St. François	+++	ø	ø
42	HE... Anne	Médicale A	+	ø	ø
43	HE... Anne	Laennec	+	ø	ø
44	HE... Henri	Laennec	++	ø	ø
45	HE... Albert (Obs. n° 10)	St. François	+++	+	10 arcs
46	HO... Rudolphe	Laennec	+	ø	ø
47	HO... Aloyse	Laennec	+++	+	1 arc
48	HU... Aline	St. François	ø	ø	ø
49	JU... Raymond	Médicale C	+++	ø	ø

N°	NOMS	SERVICE	C.R.P.	OUCHTERLONY	IMMUNOELECTROPHORESE
50	KA... Ernest	St. François	ø	ø	ø
51	KA... Joseph (Obs. n° 3)	Laennec	++	+	5 arcs
52	KA... Alice	Laennec	ø	ø	ø
53	KI... Ernest	St. François	ø	ø	ø
54	KI... Joséphine	St. François	+++	ø	ø
55	KI... Joséphine	St. François	++	ø	ø
56	KI... Louis	Mulhouse	++	ø	ø
57	KN... Georges	Colmar	+	+	5 arcs
58	KN... Georges	Colmar	+	+	5 arcs
59	KO... Marie	Laennec	++	ø	ø
60	KO... Charles (Obs. n° 11)	St. François	+	+	7 arcs
61	KO... Louise	Laennec	+	ø	ø
62	KR... Joseph	Laennec	ø	ø	ø
63	KR... Alfred	St. François	ø	ø	ø
64	KU... Antoine	Médicale C	+++	ø	ø
65	KU... Pierre	Laennec	ø	ø	ø
66	LA... Rose	Laennec	ø	ø	ø
67	LI... Joseph	St. François	ø	ø	ø
68	MA... Catherine (Obs. n° 4)	Laennec	+++	+	9 arcs
69	MI... Rodolphe	Chirurgicale B	ø	ø	ø
70	MO... Joséphine	Laennec	+	ø	ø
71	MU... Eugène	Laennec	++	ø	ø
72	MU... Charles	Médicale B	+++	+	8 arcs
73	MU... Charles	Saales	++	+	1 arc
74	MU... François	Laennec	+	ø	ø
75	NE... Rémy	Laennec	ø	ø	ø
76	NO... Emilie	Chirurgicale B	ø	ø	ø
77	PE... Yvonne (Obs. n° 12)	St. François	++	+	4 arcs
78	PE... Yvonne	St. François	++	+	7 arcs

N°	NOMS	SERVICE	C.R.P.	OUCHTERLONY	IMMUNOELECTROPHORESE
79	PE... Yvonne	St. François	++	+	4 arcs
80	PI... Maurice	Colmar	++	ø	ø
81	PU... Iguino	Laennec	+++	ø	ø
82	RA... Joseph	Laennec	+++	+	2 arcs
83	RE... Lucien	St. François	+	ø	ø
84	RE... Louise	Laennec	ø	ø	ø
85	RE... Robert	Laennec	+	ø	ø
86	RI... Alfred	Colmar	ø	ø	ø
87	RO... Michel	Laennec	++	ø	ø
88	RO... Raymond	Laennec	ø	ø	ø
89	SA... Gilbert	Médicale B	+++	ø	ø
90	SCH.. Michel	Médicale C	+++	ø	ø
91	SCH.. Georges	Laennec	ø	ø	ø
92	SCH.. Charles	Laennec	+++	ø	ø
93	SCH.. Joseph	Laennec	+	ø	ø
94	SCH.. Charles	Médicale C	++	ø	ø
95	SCH.. Germaine	Chirurgicale B	ø	ø	ø
96	SCH.. Alfred	Laennec	ø	ø	ø
97	SCH.. Jean-Paul	C.P.S.	ø	ø	ø
98	SE... Jean	Strasbourg	+	ø	ø
99	SI... Camille	St. François	ø	ø	ø
100	SU... Nicolas	Laennec	+++	ø	ø
101	TR... Charles	Laennec	++	ø	ø
102	VO... René	Laennec	+++	ø	ø
103	VO... Hélène	Laennec	+++	+	6 arcs
104	VO... Hélène (Obs. n° 5)	Laennec	+++	+	5 arcs
105	WE... Albert	Chirurgicale B	ø	ø	ø
106	WE... Albert	Chirurgicale B	ø	ø	ø
107	WE... Pierre	Laennec	ø	ø	ø
108	WE... Robert	St. François	+	ø	ø

N°	NOMS	SERVICE	C.R.P.	OUCHTERLONY	IMMUNOELECTROPHORESE
109	WE... Aloyse	Laennec	+	ø	ø
110	WE... Joseph	St. François	+++	+	1 arc
111	WE... Marie	Laennec	++	+	11 arcs
112	WE... Marie (Obs. n° 6)	Laennec	++	+	8 arcs
113	WE... Emma	Médicale C	+++	ø	ø
114	WE... Joseph	Laennec	ø	ø	ø
115	WI... Arthur	St. François	ø	ø	ø
116	WI... Suzanne	Chirurgicale B	ø	ø	ø
117	WO... Victor	Laennec	+++	+	5 arcs
118	WO... Victor (Obs. n° 7)	Laennec	+++	+	5 arcs
119	WO... Charles	Laennec	ø	ø	ø
120	WU... Albert	Laennec	ø	ø	ø

INTERPRETATION DES RESULTATS

I - C.R.P. :

Lors de la recherche des précipitines anti-aspergillaires dans 120 sérums de malades suspects d'Aspergillose, nous avons observé 76 sérums contenant la C. Reactiv - Protein. Elle apparaît dans une proportion très forte : 63 % des cas. Cet anticorps est bien plus fréquent que les précipitines anti-Aspergillus fumigatus.

Dans l'étude de nos 120 sérums, nous avons trouvé 76 réactions de C.R.P. positives, alors que seules 24 recherches de précipitines étaient positives.

Cette C. reactiv protein sérique n'est pas spécifique (LONGBOTTOM et PEPYS (55), BIGUET et coll. (9)) et nos résultats le confirment. Elle est uniquement le témoin de réactions inflammatoires.

Il est à noter qu'on la retrouve dans tous les sérums contenant des anticorps anti-Aspergillus fumigatus.

Depuis les travaux de LONGBOTTOM et PEPYS on sait que certains extraits fongiques et en particulier Aspergillus fumigatus, contiennent la substance polysaccharidique C du pneumocoque. Il est donc normal de mettre en évidence l'anticorps correspondant dans les sérums de malade atteints d'Aspergillomes dus à Aspergillus fumigatus.

II - REACTION D'OUCHTERLONY :

Dans l'étude de 120 sérums de malades suspects d'Aspergillose (par la symptomatologie clinique ou par l'image radiologique), nous avons trouvé 24 réactions d'Ouchterlony positives.

24 sérums mis en présence d'antigène mixte et d'antigène métabolique d'Aspergillus fumigatus ont provoqué la formation d'arcs de précipitation. Ces résultats permettent d'affirmer que le sérum du malade contient des anticorps précipitants correspondant à une ou plusieurs fractions antigéniques d'Aspergillus fumigatus. Ils ne donnent cependant aucune indication sur la nature des fractions antigéniques rencontrées. Cette technique est très précieuse pour sa sensibilité, mais il faudra avoir recours à l'analyse immunoélectrophorétique pour déterminer la spécificité de la réaction vis-à-vis d'Aspergillus fumigatus et pour dénombrer les systèmes antigène-anticorps précipitants.

III - ANALYSE IMMUNOELECTROPHORETIQUE :

Dans cette méthode, lorsqu'une fraction antigénique rencontre l'anticorps correspondant il se forme un arc de précipitation. A la différence de la réaction d'Ouchterlony, les arcs ne sont pas supperposés et souvent confondus, mais répartis sur toute la longueur de la plaque, en raison de l'électrophorèse préalable de l'antigène.

Tous les sérums ayant montré des arcs de précipitation à la réaction d'Ouchterlony, en ont également montré à l'analyse immunoélectrophorétique, mais en nombre variable. Nous avons dénombré, à l'analyse immunoélectrophorétique, dans les 24 sérums à réaction d'Ouchterlony positive, 1 à 11 arcs de précipitation.

- Immunoélectrophorèse à moins de 4 arcs :

Dans notre étude de 120 sérums, nous en dénombrons 4. Sérums n° 47, 73, 82, 110. Ces 4 sérums ont une C.R.P. et une réaction d'Ouchterlony positives,et une analyse immunoélectrophorétique à 1 ou 2 arcs de précipitation.

Une grande prudence doit présider à l'interprétation de tels résultats. Ils doivent toujours être confrontés aux données cliniques et radiologiques, car ils ne sont pas spécifiques par eux-mêmes. On sait que lors d'une exérèse chirurgicale ou lors d'un traitement efficace d'un Aspergillome, les réactions immunologiques persistent assez longtemps après la guérison. Dans le sérum n° 73, ce résultat est en faveur de la disparition de l'Aspergillome. L'examen précédent avait mis 8 arcs en évidence.

Les sérums n° 47, 82, 110, montrent 1 ou 2 arcs de précipitation à l'analyse immunoélectrophorétique, et des réactions de C.R.P. et d'Ouchterlony positives.

Plusieurs possibilités sont à envisager devant de tels résultats.

- Nous pouvons nous trouver devant un Aspergillome au début de son évolution et dont les signes cliniques et radiologiques sont encore négatifs. Un examen ultérieur après 6 ou 8 semaines pourra nous renseigner sur l'évolution du taux des anticorps.

- Il peut s'agir également d'un simple saprophytisme. On sait qu'un simple saprophytisme peut entraîner une réaction immunologique positive à un ou deux arcs.

- Enfin, nous pouvons nous trouver devant un Aspergillome provoqué par un autre Aspergillus, qu'Aspergillus fumigatus. Nous savons que les réactions croisées entre les Aspergillus sont très limitées et se résument à une ou 2 fractions antigéniques communes.

Pour les sérums n° 47 et n° 82 le diagnostic d'Aspergillome confronté aux données cliniques, radiologiques et aux autres recherches biologiques, n'a pu être retenu. Il semble s'agir d'un simple saprophytisme.

Pour le sérum n° 110 nous n'avons malheureusement pu poursuivre nos recherches. Le malade est décédé et aucune autopsie n'a pu être pratiquée.

- Immunoélectrophorèse à plus de 4 arcs :

Dans l'étude de 120 sérums de malades suspects d'Aspergillose, nous avons trouvé 20 immunoélectrophorèses à plus de 4 arcs de précipitation. Comme souvent plusieurs immunoélectrophorèses ont été faites pour un même malade, nous n'avons, en réalité trouvé des précipitines sériques anti-Aspergillus fumigatus que chez 14 malades.

Nous avons examiné ces 20 tracés.

Nous avons dénombré jusqu'à 11 arcs de précipitation et nous avons remarqué l'existence d'arcs privilégiés par leur constance.

- Identification des arcs :

Nous avons identifié ces arcs en nous inspirant du travail fait par BIGUET et son école (93). Nous utilisons leur nomenclature.

- Fréquence des arcs :

BIGUET et ses coll. dans une étude faite chez 100 malades ont noté la répartition suivante des arcs (93) :

Arc C présent dans 100 % des cas
Arc F présent dans 65 % des cas
Arc J présent dans 96 % des cas
Arc M présent dans 74 % des cas

En plus de leur grande fréquence, ils ont remarqué que ces 4 précipitines existaient toujours dans les sérums qui contenaient plus de 5 précipitines décelables.

Les résultats de notre travail personnel sont en accord avec ceux publiés par BIGUET et son école. Les 20 tracés examinés montrent 5 à 11 arcs de précipitation. Dans tous les tracés nous retrouvons les 4 précipitines C, J, M et F (cf. figure n° 10).

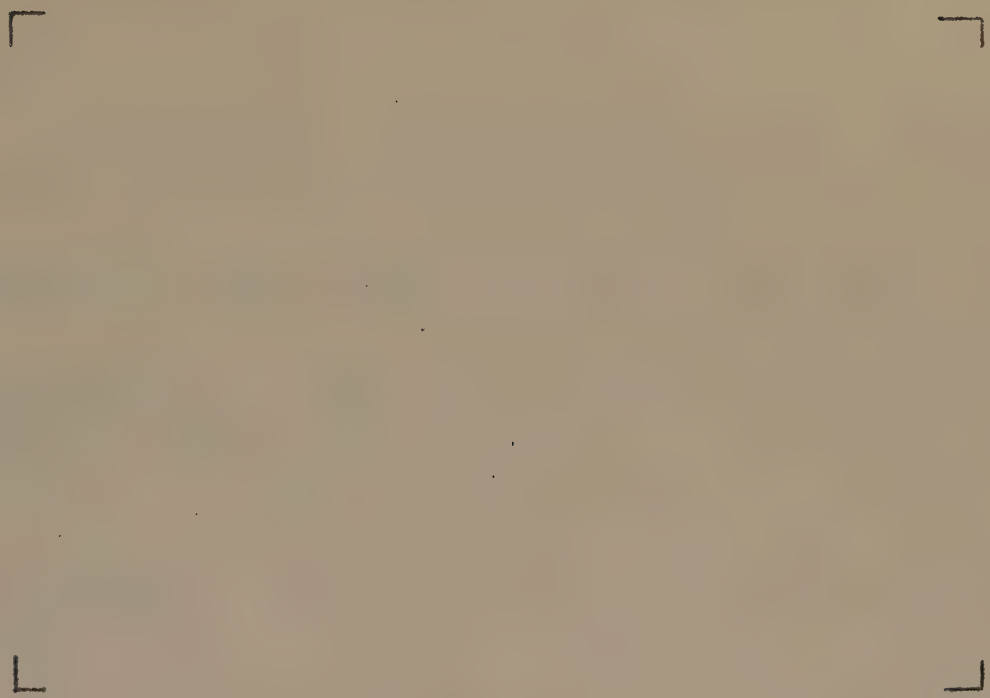


Figure 10

Immunoélectrophorèse des antigènes Aspergillus fumigatus révélés par un sérum de malade atteint d'Aspergillome pulmonaire.

(Observation n° 5).

- Spécificité de ces arcs :

Dès 1966, l'Ecole Lilloise considérait ces 4 fractions C, J, M et F, comme spécifiques d'Aspergillus fumigatus (93). Nos résultats sont en accord avec elle.

Les 14 malades chez lesquels nous avons mis en évidence des précipitines sériques anti-Aspergillus fumigatus souffrent d'un Aspergillome confirmé. Nous consacrerons un chapitre spécial à l'étude de ces Aspergillomes.

IV - CONCLUSION :

L'examen de ces divers résultats nous permet d'affirmer :

- que l'antigène d'Aspergillus fumigatus contient la substance C,

- que la présence de la protéine anti C dans le sérum d'un malade n'est pas spécifique d'une atteinte aspergillaire.Elle est simplement le témoin d'une réaction inflammatoire,

- que la présence de 1 ou 2 arcs de précipitation n'est pas pathognomonique de la pathogénicité d'Aspergillus fumigatus,

- que la présence de plus de 4 arcs de précipitation prouve que l'organisme a été en contact avec Aspergillus fumigatus et qu'il a réagi,

- qu'une très grande prudence doit présider à l'interprétation des résultats. Ils doivent toujours être confrontés avec la symptomatologie clinique et l'examen radiologique pour permettre d'affirmer le diagnostic d'Aspergillose.

ETUDE DETAILLEE DES CAS D'ASPERGILLOME

Chez 14 malades nous avons trouvé des précipitines sériques anti-Aspergillus fumigatus. Dans ce dernier chapitre nous résumerons l'observation clinique de 12 cas et nous les commenterons.

Les sérums de 7 malades nous ont été adressés par le Service de pneumo-phtisiologie de l'Hôpital Civil de Strasbourg, les autres par la Clinique Sanatorium St. François. Il nous manque l'observation de 2 cas d'Aspergillome à recherche de précipitines sériques positive.

Résumé des observations cliniques

Le Service de pneumo-phtisiologie de l'Hôpital Civil de Strasbourg et la Clinique Sanatorium St. François nous ont laissé consulter très aimablement les dossiers de leurs malades. Nous donnons ci-dessous, le résumé des diverses observations.

Nous les avons groupées par maison et à l'intérieur de ces groupes, suivant l'ordre alphabétique des noms des malades.

OBSERVATION n° 1 :

M.D... André
né le 5 Avril 1931
(manoeuvre)

Admis au Pavillon Laennec en Mai 1966.

En 1955 le malade fait une pleurésie sèche. Elle est négligée et est suivie en 1957 d'une tuberculose pulmonaire bacillifère. Le malade est traité par les tuberculostatiques, mais fait une rechute grave en 1960.

En Mai 1966, il est admis au Pavillon Laennec pour suspicion d'évolution de la bacillose. Son état général est moyen. Il ne souffre pas d'hémoptysies.

Les recherches bacillaires se révèlent toutes négatives. On note la présence d'Aspergillus fumigatus dans les expectorations.

Les examens radiologiques montrent d'importantes séquelles de tuberculose et la présence d'une opacité piriforme coiffée d'une calotte aérienne qui laisse supposer un Aspergillome.

L'immunoélectrophorèse faite en Juin 1966 par le Service du Professeur BIGUET, Lille, confirme le diagnostic d'Aspergillome : 7 arcs de précipitation.

Une intervention chirurgicale pour exérèse de la truffe est envisagée mais un bilan préopératoire médiocre y fait renoncer. Un traitement spécifique par sondes endobronchiques et par instillations locales d'Amphotéricine B est entrepris, sans grand succès. Une deuxième recherche de précipitines sériques anti-Aspergillus fumigatus est faite en Septembre 1966 et montre toujours 7 arcs de précipitation (Prof. BIGUET,Lille).

En Septembre 1967, le malade est à nouveau hospitalisé au Pavillon Laennec pour reprise évolutive de la tuberculose. Les recherches bacillaires sont positives et les recherches mycologiques sont négatives.

A l'examen radiologique, l'Aspergillome a presque complètement disparu et il ne reste qu'un petit noyau résiduel. Une troisième analyse électrophorétique faite par nous le 30.9.67 confirme cette régression et ne montre plus que 5 arcs de précipitation. Le malade suit un traitement tuberculostatique qui amène un début de détersion des lésions fraîches.

En Janvier 1968, les lésions tuberculeuses ont régressé et les résidus aspergillaires sont restés stables à l'examen radiologique.

Une dernière recherche de précipitines sériques faite en Janvier 1968 s'est révélée négative.

- Conclusion :

Aspergillome secondaire développé sur une ancienne cavité tuberculeuse et favorisé par un état général très moyen. Le traitement local semble sans effet mais la rechute tuberculeuse provoque une régression importante de la truffe avec disparition des anticorps sériques.

OBSERVATION n° 2 :

M.G... André
né le 22 Avril 1913
(ancien ouvrier S.N.C.F.)

Admis au Pavillon Laennec en Avril 1966.
(cas publié par ROEGEL et coll. (84)).

En 1956, début d'une tuberculose. Les lésions sont bi-apicales et traitées par les tuberculostatiques. Le malade fait une première rechute en 1960 et une deuxième en 1962. Les bacilloscopies sont positives. En raison de ces rechutes, une exérèse du culmen gauche est pratiquée en 1963.

En Mars 1966 survient une pneumopathie aiguë qui régresse

sous antibiothérapie banale. Le malade est admis au Pavillon Laennec en Avril 1966. Les recherches de bacilles de Koch sont négatives. Les recherches de champignons dans l'examen direct et les cultures à partir des expectorations et des produits d'aspiration bronchiques restent également négatives.

L'examen radiologique montre une image cavitaire avec une masse en son fond qui permet d'envisager la possibilité d'un Aspergillome.

En Novembre 1966, l'état général du malade s'est altéré. L'examen radiologique montre une extension des lésions tuberculeuses mais persistance de l'image en grelot observée antérieurement. Les bacilloscopies sont positives et le traitement tuberculostatique est repris.

Les tomographies de Janvier 1967 montrent une cavité remplie d'une masse de 5 cm de diamètre, manifestement aspergillaire. Les recherches de précipitines sériques sont positives. Dans l'immunoélectrophorèse du 3.2.1967 nous observons 7 arcs de précipitation.

- Conclusion :

Il y a coexistence d'une tuberculose évolutive et d'Aspergillomes pleuro-pulmonaires secondaires avec régression spontanée des masses aspergillaires, mais persistance des précipitines sériques.

OBSERVATION n° 3 :

M.K... Joseph
né le 18 Février 1903
(ouvrier d'usine : scieur)

Admis au Pavillon Laennec en 1963 puis en 1966.

En 1963 et 1964 évolution d'une tuberculose pulmonaire bilatérale grave chez un éthylique en état de précirrhose. Les bacilloscopies sont positives. Après un traitement de 15 mois par les tuberculostatiques, il y a persistance à l'examen radiologique, de séquelles cavitaires détergées.

En Septembre 1966 le malade est réadmis au Pavillon Laennec pour crachats hémoptoïques.

Le bilan radio-tomographie montre l'existence d'une cavité apicale vide, à parois épaisses.

Dans les crachats : pas de B.K. mais présence d'Aspergillus fumigatus et de candida albicans.

L'analyse immunoélectrophorétique met 5 arcs de précipitation en évidence et confirme ainsi le diagnostic d'Aspergillome secondaire en début d'évolution, sur une cavité tuberculeuse détergée.

En raison des antécédents cardiaques et hépatiques du malade, toute possibilité d'exérèse est exclue.

Depuis Novembre 1966, l'état clinique reste bon malgré des hémoptysies minimes mais récidivantes. L'examen radiologique reste inchangé et le taux de précipitines sériques ne varie guère.

Mai 1967 : 4 arcs (examen fait par le Service du Prof. BIGUET, Lille).

Octobre 1967 : 5 arcs (examen fait par nous).

- Conclusion :

Aspergillome secondaire développé sur une ancienne cavité tuberculeuse détergée avec image radiologique typique et hémoptysies récidivantes, sans évolution apparente depuis 2 ans.

OBSERVATION n° 4 :

Mme M... Catherine
née le 17 Novembre 1893
(paysanne)

Admise au Pavillon Laennec le 16 Septembre 1968.

En 1966, la malade est hospitalisée pour fractures consécutives à une chute. Après un décubitus prolongé, un abcès pulmonaire est diagnostiqué. Il est traité durant 2 mois par des antibiotiques.

A la fin du traitement, en Janvier 1967, l'examen radiologique montre une cavité détergée sans aucune autre lésion pulmonaire.

Fin Août 1968, l'état général de la malade se détériore : toux, fièvre, crachats hémoptoïques et bronchite. Elle est hospitalisée le 16 Septembre 1968 au Pavillon Laennec.

L'examen radiologique montre une cavité détergée avec un épaississement de la paroi pleurale. Cette image radiologique fait suspecter un Aspergillome.

Le diagnostic est confirmé par l'analyse immunoélectrophorétique. Le sérum de la malade révèle 9 fractions antigéniques d'Aspergillus fumigatus.

La malade est traitée actuellement par des injections locales d'Amphotéricine B.

- Conclusion :

Aspergillome secondaire développé au niveau d'une lésion primitive non tuberculeuse : abcès pulmonaire avec un aspect radiologique non typique. Le diagnostic est confirmé par l'analyse immunologique. Un traitement local est en cours.

OBSERVATION n° 5 :

Mme V... Hélène
née le 22 Mai 1922
(ménagère)

Admise au Pavillon Laennec en 1957, puis en 1965.

Entre 1957 et 1960 : évolution d'une tuberculose bilatérale, marquée par des hémoptysies. Les recherches de B.K. tant par l'examen direct que par culture sont positives. La maladie est traitée par les tuberculostatiques.

En Novembre 1964 : réapparition de crachats hémoptoïques et hospitalisation au Pavillon Laennec en Janvier 1965.

Les bacilloscopies sont négatives. Le bilan radio-tomographique évoque l'hypothèse d'un Aspergillome. Le diagnostic est confirmé par l'examen immunoélectrophorétique du sérum : 6 arcs de précipitation (C.H.U., Lille, Prof. BIGUET, Février 1965). Il y a un essai de traitement local, par l'Amphotéricine B.

Une immunoélectrophorèse du sérum faite en Mai 1965, à Lille, montre cependant toujours, 4 arcs de précipitation.

L'évolution de la maladie est marquée par des hémoptysies abondantes. L'image radiologique montre la présence d'une masse aspergillaire. Les recherches de B.K. restent toutes négatives et 2 recherches de précipitines sériques anti-Aspergillus fumigatus faites en notre laboratoire donne les résultats suivants :

. Juin 1967 : 6 arcs de précipitation
. Août 1967 : 5 arcs de précipitation

- Conclusion :

Aspergillome typique secondaire greffé sur une cavité tuberculeuse détergée, marqué par de nombreux accidents hémoptoïques. Les essais de traitement local se sont avérés sans résultats appréciables et le taux des précipitines sériques anti-Aspergillus fumigatus n'a guère varié en 2 ans.

OBSERVATION n° 6 :

Mme W... Marie
née le 14 Octobre 1898
(ancienne ouvrière)

Admise au Pavillon Laennec en Décembre 1965.

D'Avril 1964 à Décembre 1965, la malade est hospitalisée à la Clinique Sanatorium St. François pour tuberculose bilatérale, bacillifère et traitée par les antituberculeux usuels.

Fin 1965, persistance d'une volumineuse cavité de l'apex droit, à l'examen radiologique.

En Décembre 1965 : apparition brutale d'un syndrome infectieux aigu avec augmentation de l'expectoration. Radiologiquement, on note un épaississement considérable des parois de la cavité de l'apex droit.

Le 13 Décembre 1965, la malade est admise au Pavillon Laennec pour investigation complémentaire.

A l'expectoration on ne note pas de B.K. mais la présence d'Aspergillus fumigatus et de candida albicans.

L'image radiologique montre une opacification croissante de l'apex droit et évoque l'hypothèse d'un Aspergillome. L'immunoélectrophorèse du sérum faite par le Service du Prof.BIGUET à Lille, en Janvier 1966, met 6 arcs de précipitation en évidence.

L'image caractéristique en grelot, par fusion des masses mycosiques, n'apparaît que plus tardivement. Elle sera visible à la bronchoscopie en Février 1966. A la même période apparaissent des hémoptysies.

L'âge et la distribution bilatérale des lésions initiales ne permettent d'envisager une exérèse chirurgicale. Un traitement local par injections transpariétales d'Amphotéricine B est commencé. Sous son effet, on note un discret effritement de la truffe.

Une nouvelle immunoélectrophorèse faite à Lille, en Avril 1966, montre 13 arcs de précipitation.

Les accidents hémoptoïques sont fréquents et nécessitent de nouveaux séjours au Pavillon Laennec en Septembre 1966 puis en Décembre 1967.

La malade est à nouveau traitée à l'Amphotéricine B par ponctions transpariétales en Juillet et Août 1966 sans grands résultats dans son expression symptomatique. Le traitement est arrêté en Septembre 1966.

Une immunoélectrophorèse du sérum de la malade, faite dans notre laboratoire en Octobre 1966 met en évidence 11 arcs de précipitation.

Nous avons fait la dernière immunoélectrophorèse en Janvier 1968 : 8 arcs de précipitation.

Malgré la stabilité du grelot et la thérapeutique antifibrinolytique et transfusionnelle, le décès survient par hémoptysie foufroyante le 13 Janvier 1968.

- Conclusion :

Aspergillome secondaire greffé dans une cavité tuberculeuse résiduelle du lobe supérieur droit. Malgré le traitement local et une légère chute du taux d'anticorps anti-aspergillaires, décès par hémoptysie foudroyante au terme d'une évolution de 2 ans.

OBSERVATION n° 7 :

M.W... Victor
né le 23 Janvier 1926
(ancien ouvrier de filature)

Admis au Pavillon Laennec en Mai 1966.

En 1949 : diagnostic d'une tuberculose pulmonaire droite.

En 1961 : rechute de la bacillose et traitement par les tuberculostatiques. En fin de traitement il persiste une cavité de l'apex droit.

En Mars 1966 : découverte, au cours d'un examen radiologique systématique d'une masse opaque au fond de l'ancienne cavité.

Mai 1966 : admission au Pavillon Laennec dans un mauvais état général, cachexie.

La recherche de B.K. reste constamment négative.

L'examen radio-tomographique montre une grande cavité parenchymateuse remplie par une masse de forme irrégulière. L'examen immunoélectrophorétique (C.H.U., Lille) établit le diagnostic d'Aspergillome : 17 arcs de précipitation. Après un traitement local d'Amphotéricine B durant 1 mois, on ne note pas de régression de la truffe à l'examen radiologique.

En Décembre 1966 le malade est réadmis au Pavillon Laennec pour hémoptysies. La recherche de B.K. reste négative. A l'examen radiologique : la masse aspergillaire a basculé dans le fond de la cavité.

Un traitement à l'Amphotéricine B est institué mais mal toléré par le malade, il doit être arrêté. Le malade présente un très mauvais état général et l'intervention chirurgicale ne peut être envisagée.

En Août 1968 : nouvelle hospitalisation : très mauvais état général, bronchite.

La recherche de B.K. est toujours négative.

A l'examen radiologique, on ne retrouve pas la masse aspergillaire; masse fondue ?

A l'analyse immunoélectrophorétique nous n'avons retrouvé que 5 arcs de précipitation.

- Conclusion :

Aspergillome pleuro-pulmonaire développé sur d'anciennes lésions tuberculeuses. Il semble être en phase de régression : disparition de l'image radiologique et diminution du taux d'anticorps.

OBSERVATION n° 8 :

Mme B... Jacqueline
née le 6 Mai 1932
(sans profession)

Admise à la Clinique Sanatorium St. François
le 30 Décembre 1967.

En Mai 1954 : première atteinte tuberculeuse.

En 1959 : première rechute. La malade est traitée par les tuberculostatiques usuels. Les recherches de B.K. sont négatives.

En Septembre 1966 : deuxième rechute tuberculeuse survenant à la suite d'un accouchement. Très mauvais état général. Bacilloscopies positives.

A l'examen radiologique : lésions multilatérales à prédominance apicale et en poussée évolutive. Un traitement à base de Rimifon, P.A.S., Streptomycine est instauré.

Dès Mars 1967, les recherches de B.K. sont négatives et le sont restées par la suite.

En Juillet-Août 1967 : l'examen radiologique montre une opacification des images polikystiques du sommet droit et une condensation des anciennes cavités du côté gauche.

A l'examen clinique on note une irritation bronchique sans hémoptysies. La recherche de précipitines sériques anti-aspergillaires est positive (7 arcs de précipitation) et permet de poser le diagnostic d'Aspergillome.

L'Aspergillome évolue sans traitement et semble être actuellement en régression à l'examen radiologique.

- Conclusion :

Aspergillome secondaire greffé sur d'anciennes cavités tuberculeuses. Malgré un taux d'anticorps assez élevé (9), et l'absence de traitement, la dernière image radiologique montre une légère régression.

OBSERVATION n° 9 :

Mme D... Caroline
née le 24 Mars 1907
(ancienne ouvrière)

Hospitalisée à la Clinique Sanatorium St. François
du 14 Décembre 1966 au 25 Mars 1967.

Première hospitalisation en Novembre 1964 pour tuberculose pulmonaire confirmée. L'examen bactériologique montre la présence de B.K. bovin.

L'examen radiologique détecte une caverne du sommet gauche.

La malade est traitée par les tuberculostatiques usuels, P.A.S., Rimifon, Streptomycine.

En Décembre 1966, hospitalisation pour hémoptysies.

L'image radiologique évoque la présence d'une truffe aspergillaire dans l'ancienne cavité détergée.

La malade est en un mauvais état général. Les hémoptysies sont importantes et l'examen immunoélectrophorétique (9 arcs de précipitation) confirme le diagnostic d'Aspergillome.

- Conclusion :

Aspergillome secondaire greffé sur une ancienne cavité tuberculeuse détergée. Image radiologique typique. Hémoptysies. Le diagnostic est confirmé par l'examen immunologique.

OBSERVATION n° 10 :

M. H... Albert
né le 16 Octobre 1906
(maçon)

Hospitalisé à la Clinique Sanatorium St. François
du 1er Mars 1967 au 30 Mars 1967.

En 1955 : première atteinte tuberculeuse. Le malade est hospitalisé pendant 1 an et suit un traitement tuberculostatique.

En 1962, les bacilloscopies sont à nouveau positives et la thérapeutique à base d'antibiotiques et de tuberculostatiques est reprise.

En 1965, hospitalisation de 3 jours à la Clinique St. François pour un bilan. L'examen radiologique montre une image kystique du sommet droit.

En Mars 1967, l'examen radiologique met en évidence une opacité dense du sommet droit qui évoque la présence d'un Aspergillome. Les recherches de B.K. tant par l'examen direct que par culture sont négatives.

La recherche de précipitines sériques anti-Aspergillus fumigatus s'avère positive (10 arcs) et confirme le diagnostic d'Aspergillome.

- Conclusion :

Aspergillome secondaire greffé sur une ancienne cavité tuberculeuse détergée. L'examen immunologique confirme le diagnostic évoqué à partir de l'image radiologique. Pas de signes cliniques.

OBSERVATION n° 11 :

M. K... Charles
né le 22 Novembre 1905
(cultivateur)

Hospitalisé à la Clinique Sanatorium St. François
en 1964, 1967 et 1968.

La première atteinte tuberculeuse date de 1945. Elle n'est pas traitée bien que les recherches de B.K. soient positives.

En Octobre 1964, le malade fait une rechute : atteinte tuberculeuse bilatérale excavée. Les recherches de B.K. sont positives. Le malade est traité à la Clinique St. François par les tuberculostatiques usuels. Après 18 mois de traitement, les recherches de B.K. sont négatives et l'examen radiologique ne montre plus que des séquelles fibreuses.

Début 1967, le malade est réadmis à la Clinique St. François pour décompensation respiratoire importante avec dyspnée et cyanose. A l'examen radiologique, aucune modification n'est notée depuis la dernière hospitalisation. Une antibiothérapie est instaurée mais la dyspnée à l'effort persiste en fin de traitement.

Les tests hépatiques perturbés sont en relation avec des facteurs éthyliques certains.

En Février 1968, le malade est réadmis à la Clinique pour un nouveau bilan.

A l'examen radiologique : séquelles fibreuses avec images kystiques.

Mais à l'examen tomographique, une image pleine, recouverte d'un croissant clair, est visible évoquant la présence d'un Aspergillome. Le diagnostic est confirmé par la recherche de précipitines sériques par immunoélectrophorèse (7 arcs).

- Conclusion :

Aspergillome secondaire greffé sur une ancienne cavité tuberculeuse détergée chez un malade à atteinte éthylique certaine. La symptomatologie clinique n'est guère évocatrice,mais l'image tomographique évoque le diagnostic d'Aspergillome, confirmé par l'examen immunologique.

OBSERVATION n° 12 :

Mme P.. Yvonne
née le 4 Mars 1925
(sans profession)

Hospitalisée à la Clinique Sanatorium St. François
le 6 Novembre 1967.

En 1955, première atteinte tuberculeuse, confirmée par les recherches bactériologiques. La malade est hospitalisée durant 6 mois et traitée par les antibiotiques.

En 1956, nouvelle poussée évolutive.

En 1958, intervention chirurgicale et thoracoplastie gauche.

En 1959, nouvelle intervention chirurgicale.

En 1963, nouvelle rechute tuberculeuse du côté droit cette fois-ci. La recherche de B.K. est positive. Un traitement à base de Trécator, Rimifon et Streptomycine est instauré.

En 1966, hospitalisation à Colmar. La recherche de B.K. est toujours positive.

En Juillet 1967, absence de B.K. dans les crachats après un traitement de 6 mois à base de P.A.S. - I.N.H. - Viomycine et Cyclosérine.

Le 6 Novembre 1967, la malade est hospitalisée à la Clinique St. François après réapparition de B.K. dans les crachats.

Un traitement tuberculostatique est instauré et aboutit à la disparition des B.K.

L'examen radiologique montre le début de comblement d'une cavité du sommet gauche. La symptomatologie clinique est marquée par l'apparition d'hémoptysies. Les signes radiologiques et cliniques font suspecter la présence d'un Aspergillome.

L'analyse immunoélectrophorétique confirme le diagnostic.

La première recherche immunoélectrophorétique faite le 11.6.1968 met 4 arcs de précipitation en évidence, celle du 26.7.1968 : 7 arcs et celle du 5.9.1968 : 4 arcs de précipitation.

La recherche de B.K. est restée négative jusqu'en Juillet. Elle redevient positive à partir de fin Août. La diminution du taux d'anticorps semble donc liée à une nouvelle poussée évolutive de la tuberculose.

- Conclusion :

Aspergillome secondaire greffé sur une ancienne cavité tuberculeuse. La symptomatologie clinique faite d'hémoptysies et l'image radiologique évoquent le diagnostic, confirmé par les recherches immunologiques. Son évolution semble être actuellement en régression à la suite d'une nouvelle récidive de la tuberculose.

Chez tous ces malades, on ne note pas d'anémies graves, ni d'éosinophilie supérieure à 4 % . Quelques légères anémies sont observées après les hémoptysies.

Discussion

Nous allons passer en revue ces 12 cas d'Aspergillome et résumer les points essentiels tant étio-pathogéniques, que sémiologiques, radiologiques, biologiques, cliniques et thérapeutiques.

- Du point de vue étiopathogénique :

L'âge de nos malades s'étage entre 36 et 75 ans. 5 de nos malades ont entre 36 et 50 ans et 7 au delà de 50 ans au moment du dépistage de l'affection. Ce chiffre est élevé en comparaison des autres statistiques : en moyenne seulement 35 % des cas apparaissent après 50 ans.

La prédominance masculine de l'affection dans la répartition suivant le sexe n'apparaît pas non plus dans nos observa-

tions. Nous avons trouvé des précipitines sériques chez 6 hommes et 6 femmes.

On note par contre, dans tous les cas, un usage prolongé d'antibiotiques antérieurs à la mycose pulmonaire. La découverte de l'Aspergillome est faite dans la plupart des cas, 2 à 3 ans après l'arrêt de l'antibiothérapie.

- Du point de vue pathogénique :

Il est à noter que tous les Aspergillomes observés sont des Aspergillomes secondaires greffés sur d'anciennes lésions. Dans 11 cas, la mycose s'est développée sur d'anciennes cavités tuberculeuses détergées, dans 1 seul cas (OBSERVATION n°4), la masse aspergillaire s'est greffée au niveau d'une lésion primitive non tuberculeuse : abcès pulmonaire.

- Du point de vue sémiologique :

Les hémoptysies constituent l'essentiel du tableau clinique. Elles sont présentes dans 7 cas sur 12 cas observés. Elles sont peu abondantes en général, récidivantes et peuvent devenir inquiétantes et entraîner le décès (OBSERVATION n° 6).

- Du point de vue radiologique :

8 Aspergillomes sur 12 ne se manifestent par aucun signe clinique particulier et sont suspectés lors de l'examen radiologique (OBSERVATIONS n° 1, 2, 4, 6, 7, 8, 10, 11).

Les lobes pulmonaires supérieurs sont la localisation préférentielle des Aspergillomes.

L'aspect de l'Aspergillome est rarement typique dès le premier examen radiologique (OBSERVATIONS n° 2 et 9). Il s'agit le plus souvent de formes de début d'infestation qui revêtent l'aspect, soit d'épaississement des parois d'une ancienne cavité (OBSERVATIONS n° 3 et 4), soit d'opacification de la cavité (OBSERVATIONS n° 1, 5, 6, 7, 8, 10, 11 et 12).

- Du point de vue biologique :

Dans les 12 cas rapportés, la présence de précipitines sériques, mises en évidence par la réaction d'Ouchterlony et l'analyse immunoélectrophorétique, a confirmé le diagnostic d'Aspergillome évoqué soit par des signes cliniques, soit le plus souvent par la modification de l'image radiologique. Le plus souvent nous n'avons fait qu'une seule recherche de précipitines sériques anti-Aspergillus fumigatus chez un malade et ce, pour confirmer le diagnostic d'Aspergillome.

Dans quelques cas nous avons pu suivre l'évolution de la maladie par des recherches immunologiques répétées.

Dans l'OBSERVATION n° 1, nous avons observé une disparition des anticorps sériques après la rechute tuberculeuse.

Dans l'OBSERVATION n° 12, la rechute tuberculeuse n'a provoqué qu'une diminution du taux des anticorps : 7 à 4 en 2 mois.

Dans les OBSERVATIONS n° 3 et 5 on ne note aucune modification du taux des anticorps et l'Aspergillome ne semble subir aucune évolution apparente depuis 2 ans.

Dans l'OBSERVATION n° 6, on note une légère diminution des anticorps, peut-être liée au traitement.

Enfin dans l'OBSERVATION n° 7, on note également une diminution du taux des anticorps sériques malgré l'absence de traitement. Cette diminution du taux des anticorps va de pair avec une disparition de la masse aspergillaire à l'image radiologique.

Dans tous les cas, nous avons remarqué que la variation du taux des anticorps reflétait très fidèlement l'évolution de la mycose pulmonaire.

- Du point de vue clinique :

Nous signalerons d'abord les formes atypiques par leur latence : 5 cas ne s'accompagnent d'aucune hémoptysie.

Dans 1 cas : OBSERVATION n° 2, nous notons l'association d'une tuberculose et d'un Aspergillome vivant. Chez ce malade, l'évolution se fait vers l'élimination totale des masses aspergillaires.

L'OBSERVATION n° 6 revêt un caractère particulier par son mode de début et peut être intégrée dans le cadre des infestations cavitaires aiguës. Son début brutal, fébrile, accompagné d'une baisse de l'état général, son image radiologique montrant une opacification rapide, sont caractéristiques de cette forme de début.

La durée d'évolution de l'affection est très variable suivant les cas considérés.

. dans 2 cas (OBSERVATIONS n° 1 et 12), la rechute tuberculeuse s'est accompagnée d'une régression de l'Aspergillome ;

. dans 2 cas (OBSERVATIONS n° 3 et 5), l'affection semble rester stationnaire depuis 2 ans ;

. dans 2 cas (OBSERVATIONS n° 7 et 8), on note une régression spontanée de l'Aspergillome ;

. dans 1 cas enfin (OBSERVATION n° 6), l'Aspergillome a été la cause directe du décès par hémoptysie foudroyante.

- Du point de vue diagnostic :

Le diagnostic est le plus souvent évoqué soit d'après l'image radiologique seule : 8 cas sur 12, soit d'après l'image radiologique et les signes cliniques : 4 cas sur 12. Le diagnostic formel d'Aspergillome est apporté dans tous les cas par la mise en évidence de précipitines anti-aspergillaires dans le sérum des malades.

- Du point de vue thérapeutique :

Aucun cas n'a pu être traité chirurgicalement. Les contre-indications opératoires sont liées,

soit au terrain : âge des sujets, mauvais état général, déficience cardio-vasculaire,

soit à l'importance des séquelles de l'affection primitive et de leur retentissement fonctionnel,

soit à l'évolution parallèle d'une tuberculose.

Les essais de traitement local à l'Amphotéricine B furent tentés chez quelques uns de nos malades, mais furent le plus souvent décevants.

Dans le cas n° 1, les instillations sont suivies de la fragmentation radiologique de la truffe. Cependant ce traitement semble avoir trouvé un allié dans la bacillose associée.

Dans les cas n° 5, 6 et 7, le traitement par voie transpariétale ne provoque que la désintégration de la truffe.

En conclusion, les traitements par voie locale s'avèrent très décevants dans les cas observés. Les seules améliorations véritables semblent devoir être mises sur le compte d'une tuberculose associée.

C O N C L U S I O N

Durant ces deux dernières années, nous avons recherché des précipitines anti-Aspergillus fumigatus dans 120 sérums de malades suspects d'Aspergillose. Pour ce faire,nous avons d'une part, extrait les fractions antigéniques solubles du champignon et de son milieu de culture, d'autre part, recherché, grâce à ces antigènes, les anticorps anti-aspergillaires dans le sérum de ces malades.

Pour ces recherches, nous préconisons les réactions d' OUCHTERLONY, pour leur sensibilité, et les analyses immuno-électrophorétiques, pour leur caractère analytique. Les expériences faites ont montré que ces techniques étaient spécifiques et fidèles, à condition d'employer un antigène de bonne qualité. Elles sont d'utilisation relativement facile et donnent d'excellents résultats. Ceux-ci cependant, pour avoir toute leur valeur, doivent être interprétés avec une grande prudence et seront toujours confrontés aux données cliniques et radiologiques.

Nous avons ainsi pu mettre en évidence des anticorps sériques anti-aspergillaires chez 14 malades. Les résultats biologiques ont permis de confirmer le diagnostic d'Aspergillome pulmonaire, suspecté, soit par l'image radiologique, soit par les signes cliniques et radiologiques associés, et dans quelques cas, d'en suivre l'évolution.

Aucun des cas d'Aspergillome décrits, n'offrait tous les signes classiques de mégamycétome décrit en 1938 par DEVE, marqués cliniquement par des hémoptysies et radiologiquement par l'image typique "en grelot". L'affection avait été suspectée soit par la découverte d'une masse mycélienne dans une ancienne cavité détergée, soit lors d'hémoptysies répétées, mais le diagnostic formel n'a pu être établi que par la mise en évidence de précipitines sériques spécifiques par immunoélectrophorèse.

Dans tous nos cas, l'Aspergillus fumigatus était fixé sur des lésions préexistantes et chez des malades ayant suivi antérieurement une antibiothérapie massive et prolongée.

Toutes les formes observées étaient pulmonaires. Ce sont les localisations préférentielles du champignon dans nos régions; les otomycoses d'origine fongique sont très rares sous nos climats. Cependant, les lésions créées par les interventions à coeur ouvert, conséquence des progrès en chirurgie, semblent offrir un nouveau terrain de mycose interne. C'est dire toute l'importance que revêt actuellement et dans l'avenir, la recherche de précipitines sériques chez les malades suspects d'Aspergillose.

B I B L I O G R A P H I E

(1) - ABBOTT J.D., FERNANDO H.V., GURLING K., MEADE B.W. :
Pulmonary aspergillosis following post-influenzal broncho-pneumonia treated with antibiotics.
Brit. Med. J. , 1952, 4757, 523-525.

(2) - ACAR J.F., SICARD D. :
Chimiothérapie des mycoses profondes.
Rev. du Praticien, 1968, XVIII, 19, 2965-2971.

(3) - BALGAIRIES E., AUPETIT J., LENOIR L. :
Aspergillomes intra-cavitaires chez les pneumoconiotiques.
Le Poumon et le Coeur, 1960, 16, 3, 253-262.

(4) - BASTIN R., SICARD D. :
Septicémies et endocardites à levures et à Aspergillus.
Rev. du Praticien, 1968, XVIII, 19, 2927-2937.

(5) - BEARD H.W., RICHERT J.H. and TAYLOR R.R. :
The treatment of deep mycotic infections with Amphotericin B - with particular Emphasis on drug toxicity.
Amer. Rev. Resp. Dis., 1960, 81, 1 ; 43-51.

(6) - BIGUET J., CAPRON A., TRAN VAN KY P. :
Diagnostic mycologique et immunologique des Aspergillomes pulmonaires.
Poumon et Coeur, 1963, 19, 102.

(7) - BIGUET J., CAPRON A., TRAN VAN KY P. :
Le diagnostic immunologique des parasitoses humaines.
Lille Médical, 1967, 12, 1, 43-52.

(8) - BIGUET J., CAPRON A., TRAN VAN KY P. :
Le diagnostic immunologique des parasitoses.
Lille Médical, 1968, 13, 5, 547-552.

(9) - BIGUET J., CAPRON A., TRAN VAN KY P., ROSE F. :
Présence de substances de type C dans les antigènes vermineux et de protéine anti C au cours des helminthiases humaines ou expérimentales.
Rev. Immunol., 1965, 29, 4-5, 233-240.

(10) - BIGUET J., TRAN VAN KY P., ANDRIEU S. :
Analyse immunoélectrophorétique d'extraits cellulaires et de milieux de culture d'Aspergillus fumigatus par des immuns sérums expérimentaux et des sérums de malades atteints d'Aspergillome broncho-pulmonaire.

Ann. Inst. Pasteur, 1954, 107, 72-97.

(11) - BIGUET J., TRAN VAN KY P., ANDRIEU S., FRUIT J. :
Analyse immunoélectrophorétique des antigènes fongiques et systématique des champignons. Répercussions pratiques sur le diagnostic des mycoses.

Mycopathol. et Mycol., 1965, 26, 241-256.

(12) - BIGUET J., TRAN VAN KY P., CAPRON A., FRUIT J. :
Analyse immunochimique des fractions antigènes solubles d'Aspergillus fumigatus. Ordre d'apparition des anticorps expérimentaux du lapin : comparaison de ces derniers avec des anticorps naturels humains.

C.R. Acad. Scienc., 1962, 254, 3768.

(13) - BIGUET J., TRAN VAN KY P., FRUIT J., ANDRIEU S. :
Identification d'une activité chymotrypsique au niveau de fractions remarquables de l'extrait antigénique d'Aspergillus fumigatus.

Rev. d'Immun. Paris, 1967, 31, 317-328.

(14) - BREA M. : A propos de l'Aspergillome bronchectasiant.

J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1952, 6, 5, 514-515.

(15) - CALLOT J., HELLUY J. : Parasitologie Médicale.

Edition Flammarion, Paris, 1958.

(16) - CAMPBELL M.J. and CLAYTON Y.M. : Broncho-pulmonary aspergillosis.

Amer. Rev. Resp. Dis., 1964, 89, 2, 186-196.

(17) - CAULET R., LE MELLETIER J. :
Aspergillose greffée sur un séquestion dans une cavité pulmonaire suppurée chez un malade porteur d'un épithélioma bronchique controlatéral.

J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1964, 18, 5, 569-577.

(18) - CHARPIN J., OHRESSER P., BOUTIN C., GRANGAUD P., CHARPIN H., RENARD M. :
Etude, lors d'une série de bronchoscopies, de la flore fungique des bronches.

Rev. Tub. Pneum., 1964, 28, 4, 433-437.

(19) - COROLLER J., MOIGNETEAU C., VERMEIL C., LUCAS J. :
Etude d'une brève série d'Aspergillomes.

Bull. Act. Ther., 1967

(20) - CORPE R.F. and COPE J.A. :
Bronchogenic cystic disease complicated by unsespected choleraesui and Aspergillus infestation.

Amer. Rev. Resp. Dis., 1956, 74, 1, 92-98.

(21) - DEKEUWER-LAMBRE J. :
L'Aspergillose broncho-pulmonaire et pleurale dans la région du Nord de la France.

Thèse, Lille, 1968.

(22) - DES AUTELS E.J., HOFFMAN G.R. and MONTES M. :
Invasive pulmonary aspergillosis. Difficulties in Establishing the diagnosis and distinguishing primary from secondary infection.

Dist. Chest., 1962, 42, 2, 208-212.

(23) - DESBORDES J., MANOUVRIER F., TAYOT J., DUCROCQ A. :
Les formes pseudo-tuberculeuses de l'Aspergillose broncho-pulmonaire.

Presse Méd., 1968, 76, 255-258.

(24) - DEVÉ F. :
Une nouvelle forme anatomo-radiologique de mycose pulmonaire primitive : le mégamycétome intra-bronchestasique.

Arch. Méd. Chir. App. Resp., 1938, 13, 5, 337-361.

(25) - DIEULAFOY, CHANTEMESSE, WIDAL :
Une pseudo-tuberculose mycosique.

Communication au Congrès de Berlin, 1889, citée par DIEULAFOY :

Manuel de Pathologie interne, Masson, Paris, 1968.

(26) - DOLLE G.A. : A propos d'une observation d'Aspergillome intra cavitaire chez un tuberculeux guéri. Rôle possible des antibiotiques.

Thèse, Paris, 1960.

(27) - DROUHET E. : Action de l'Amphotéricine B dans les mycoses profondes. Etude mycologique, clinique et thérapeutique de 15 observations.

Rapport à la Société Française de Mycologie Médicale, du 8.4.1960.

(28) - DROUHET E., SEGRETAIN G., MARIAT F. :
Diagnostic de laboratoire des mycoses.

Rev. du Praticien, 1968, 18, 19, 2863-2898.

(29) - DROUHET E., SEGRETAIN G., PESLE G., DIBET L. :
Valeur de la recherche des précipitines sériques en milieu gélifié pour le diagnostic des Aspergilloses broncho-pulmonaires.

J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1963, 17, 6, 655-661.

(30) - DUROUX A. : Lyse spontanée d'un Aspergillome secondaire.

J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1965, 19, 5, 557-560.

(31) - DUROUX A., SOMIA A., DROUHET E. :
Aspergillomes greffés sur de vieilles cavernes tuberculeuses.

J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1960, 14, 6, 729-734.

(32) - DYER A.E. and KADAR D. :
Fibrin suspension assay for fibrinolytic activity.

Blood, 1964, 23, 6, 729-739.

(33) - FOURCHON J., LANCESTRE G. :
Aspergillome pleural.

J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1964, 18, 6, 679-688.

(34) - FRANKLAND A.W., DAVIES M.D. et R.R. :
Allergie aux spores de moisissures en Angleterre.

Le Poumon et le Coeur, 1965, 21, 1, 11-23.

(35) - FREOUR P., LAUMONIER P., CARRE J.C., POTAUX L., MORVAN A. :
Sur un volumineux Aspergillome intra-pleural.

J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1963, 17, 4, 419-425.

(36) - GERNEZ-RIEUX C., BIGUET J., VOISIN C., CAPRON A., BALGAIRIES E., TRAN VAN KY P. : Diagnostic sérologique des Aspergillomes broncho-pulmonaires par immuno-électrophorèse.

J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1963, 17, 6, 663-676.

(37) - GERNEZ-RIEUX C., BIGUET J., VOISIN C., CAPRON C., TRAN VAN KY P. :
Diagnostic immunologique des Aspergillomes broncho-pulmonaires. Mise en évidence d'anticorps sériques spécifiques par immuno-électrophorèse.

Presse Méd., 1963, 71, 31, 1541-1543.

(38) - GERNEZ-RIEUX C., DELARUE J., VOISIN C., SAVINEL E. :
Aspergillome bronchectasiant greffé sur une pneumoconiose à l'amiante et au Kieselguhr.

Lille Médical, 1959, 4, 373-378.

(39) - GERNEZ-RIEUX C., VOISIN C., TONNE A.B., WATTEL F. :
Possibilités et limites du diagnostic immunologique dans les affections broncho-pulmonaires non tuberculeuses.

Revue du Praticien, 1968, 357.

(40) - GRABAR P., WILLIAMS C.A. :
Method permetting the simultaneous study of electrophoretic and immuno-chemical properties of a protein.

Biochem. Biophys. Acta, 1953, 10, 193.

(41) - GUIBERT L. : Extraits allergéniques de moisissures et de champignons pathogènes.

Le Poumon et le Coeur, 1965, 21, 1, 25-31.

(42) - HENRICI A.T. : Characteristics of fungus diseases.

J. Bact., 1940, 39, 113-138.

(43) - HERTZOG P., TOTY L., PERSONNE C., BUTEZ J., SANCHEZ M. :
Du polymorphisme des Aspergillomes broncho-pulmonaires.

J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1961, 15, 5, 557-575.

(44) - HINAUT G., PAILLAS J., FABRE C., CHOFFEL C., PACOT C. :
Sarcoïdose pulmonaire excavée avec Aspergillomes intra-cavitaires.

J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1967, 21, 1, 33-44.

(45) - HOFFKEN W. : Das aspergillom des Lunge.

Fortschr. Röntg., 1956, 84, 4, 397-407.

(46) - HUNT W., BRODERS C.A., STINSON J.C. and CARABASI R.J. :
Primary Pulmonary Aspergillosis. With invasion of the mediastinal. Contents and lymph nodes.

Amer. Rev. Resp. Dis., 1960, 83, 6, 886-890.

(47) - HUSEBEYE K.O. : Serial studies in a case of pulmonary aspergillosis.

Dis. Chest., 1967, 51, 3, 327-332.

(48) - KOEHL Ch. : L'Aspergillose pleuro-pulmonaire. A propos de 26 malades observés au Pavillon Laennec de 1957 à 1967.

Thèse, Strasbourg, 1968.

(49) - LAGEZE P., BERARD M., GALY P., TOURAINE R. :
Le mégamycétome pulmonaire ou aspergillome intra-cavitaire.
A propos de 3 cas.

J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1953, 7, 6, 648-662.

(50) - LAHOURCADE M. : L'Aspergillome pulmonaire. Pathologie et pathogénie. -
Path. Biol., 1961, 9, 12, 17-37.

(51) - LAHOURCADE M. : Conception renouvelée de l'Aspergillose humaine.
Path. Biol., 1962, 10, 21, 1661-1666.

(52) - LEMERCIER J.P., MANOUVRIER F. :
Aspergillome bronchectasiant et Aspergillome bronchique.
J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1958, 12, 2, 154-163.

(53) - LE TACON J., TRIBOULET F. : Aspergillome pleural.
Bull. Soc. Méd. Hauteville, 1963, 30e année, 53-55.

(54) - LE TALLEC Y., DELAUDE A., VADHAT F., MOREAU G. :
Aspergillome sur poumon radiothérapique.
J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1966, 20, 5, 557-565.

(55) - LONGBOTTOM J.L. and PEPYS J. :
Pulmonary aspergillosis. Diagnostic and Immunological significance of Antigens and C substance in Aspergillus Fumigatus.
J. Path. Bact., 1964, 88, 141-151.

(56) - MACAIGNE M., NICAUD P. :
Recherches sur les réactions antigéniques dans l'Aspergillose. Intradermo-réaction et réaction antigénique focale.
C.R. Soc. Biol., 1927, 96, 1, 446-448.

(57) - MARTIN-LALANDE J., CARRAUD J., DJEBBAR A., JAUBERTIE R. :
Aspergillose et suppuration : épisode pyogène suraigu intra-cavitaire après dégénérescence et mort aspergillaire in situ.
J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1965, 19, 5, 569-589.

(58) - MARTIN-LALANDE J., LO J. :
Aspergillome bronchectasiant associé à une tuberculose pulmonaire active. Résultats favorables d'un traitement médical antifungique.
J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1957, 11, 1, 77-81.

(59) - MATCARNEY J.N. : Pulmonary aspergillosis : a review and a description of three new cases.
Thorax, 1964, 19, 287-297.

(60) - MONOD O., LO J. : A propos des Aspergillomes bronchectasiants.
J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1957, 11, 3, 257-260.

(61) - MONOD O., PESLE G., LABEGUERIE M. :
L'Aspergillome bronchectasiant.

J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1952, 6, 3, 229-244.

(62) - MONOD O., PESLE G., MEYER A. :
L'Aspergillome bronchectasiant.

Sem. Hôp. de Paris, 1957, 33, 61, 3588-3602.

(63) - MONOD O., PESLE G., SEGRETAIN G. :
L'Aspergillome bronchectasiant.

Presse Méd., 1951, 59, 74, 1557-1559.

(64) - MONOD O., RENAULT P., LE TACON J., TOBE F., LE HEGARAT R., MARION L., PESLE F., DROUHET E., VOISIN C. :
La surinfection aspergillaire chez les tuberculeux pulmonaires traités. Evaluation du risque aspergillaire dans les populations sanatoriales.

Rev. Tub. Pneum., 1965, 29, 7/8, 701-705.

(65) - N'DRI A. : Contribution à l'étude des précipitines sériques anti-Aspergillus flavus chez les sujets suspects d'Aspergillose.

Thèse, Lille, 1966.

(66) - OUCHTERLONY O. : Antigen - Antibody reaction in gels.

Ark. Keni, 1948, 26, 1.

(67) - OUDIN J. : Méthodes d'analyse immunochimique par précipitation sélective en milieu gélifié.

C.R. Acad. Scienc., 1946, 222, 115.

(68) - PASTEUR-VALLERY-RADOT, GIROUD P. :
Sporomycose des pelleteurs de grains.

Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 1928, 52, 1632.

(69) - PEPYS J. : The role of human precipitations to common fungal antigens in allergic reactions.

Acta allergollogica, 1960, Sup. XII, 108.

(70) - PEPYS J. : Possible role of precipitins against aspergillus fumigatus.

Amer. Rev. Resp. Dis., 1964, 90, 3, 465-467.

(71) - PEPYS J., LONGBOTTOM J.L., JENKINS P.A. :
Les pneumoconioses par poussières végétales. Etude des antigènes extraits des poussières végétales. Etude comparative du poumon de fermier et de l'Aspergillose pulmonaire.

Lille Méd., 1964, 9, 2, 93-101.

(72) - PEPYS J., RIDDELL R.W., CITRON H.M., CLAYTON Y.M. :
Precipitins against extracts of hay and moulds in the serum of patients with farmer's lung, aspergillosis, asthma and sarcoïdosis.

Thorax, 1962, 17, 366-374.

(73) - PEPYS J., RIDDEEL R.W., CITRON K.M., CLAYTON A.M., SHORT E.I. :
Clinical and immunological significance of aspergillus fumigatus in the sputum.

Amer. Rev. Resp. Dis., 1959, 80, 2, 167-180.

(74) - PERSONNE C. : Un problème de pneumologie désormais courant : l'Aspergillome pulmonaire.

Rev. Tub. Pneum., 1961, 25, 12, 1434-1448.

(75) - PESLE G.D. : Evolution de l'Aspergillome bronchectasiant. A propos de 4 cas.

Presse Méd., 1956, 64, 68, 1563-1566.

(76) - PESLE G.D. : L'Aspergillose. Formes cliniques et traitement.

Rev. Path. Gén., 1956, 683, 1671-1683.

(77) - PESLE G.D., MONOD O., RENAULT P., LE HERAGAT J., SEGRETAIN C., LE TACON J., VOISIN C. :
La surinfection aspergillaire chez les tuberculeux pulmonaires traités. Eléments du diagnostic pneumologique.

Rev. Tub. Pneum., 1965, 29, 7/8, 711-717.

(78) - PESLE G.D., TRIBOULET F. :
Traitement des hémorragies dans l'Aspergillose pulmonaire.

Presse Méd., 1964, 72, 18, 1059.

(79) - POULET J. : Les Aspergilloses broncho-pulmonaires.

Bull. Soc. Méd. Hauteville, 1963, 30e année, 3-19.

(80) - PROCKNOW J.J. and LOEWEN D.F. :
Pulmonary aspergillosis with cavitation secondary to histoplasmosis.

Amer. Rev. Resp. Dis., 1960, 82, 1, 101-111.

(81) - RAUTUREAU R., JOLY H., LASSURE P., JOSPIN :
Aspergillome pulmonaire bilatéral. Exérèse - Récidive de chaque côté.

Bull. Soc. Méd. Hauteville, 1963, 30e année, 49-51.

(82) - RENON L. : Recherches cliniques et expérimentales sur la pseudo-tuberculose aspergillaire.

Thèse, Paris, 1893.

(83) - RENON L. : Etude sur l'Aspergillose chez les animaux et chez l'homme.
Communication à la Soc. de Biolog., Paris, 1897.

(84) - ROEGEL E., LAMBERT J., BOHNER C., HEROLD J., WEITZENBLUM E., OUDET P. : Evolution simultanée de tuberculose et d'Aspergillose, à propos de deux observations avec élimination des Aspergillomes pleuro-pulmonaires.
Rev. Tub. Pneum., 1967, 31, 8, 1121-1138.

(85) - RODRIGUES F. : L'Aspergillome, mycose des cavités broncho-pulmonaires.
J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1959, 13, 2, 179-192.

(86) - ROUSSEL J.Cl. : Contribution à l'étude des Mycoses pulmonaires.
Thèse, Lille, 1968.

(87) - SARTORY A., BAILLY A. : Les mycoses pulmonaires et leurs parasites.
Ed. Clinique et Laboratoires, Paris, 1923.

(88) - SEGRETAIN G. : Aspergillose, mycologie et diagnostic de laboratoire.
Rev. Path. Gén., 1956, 683, 1664-1670.

(89) - SEGRETAIN G., DROUHET E., MARIAT F. :
Diagnostic de laboratoire en mycologie médicale.
Editions de la Tourelle, St. Mandé, 1958.

(90) - SEGRETAIN G., DROUHET E., MARIAT F. :
Les mycoses et les champignons pathogènes.
Traité de Biologie appliquée par H.R.OLIVIER,
Ed. Maloine, Paris, 1963.

(91) - TARDIEU P., DIEUDONNE P., MONOD O., ATCHOARENA J.B. :
Aspergillomes pleuraux.
J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1964, 18, 5, 591-596.

(92) - THOM Ch., RAPER K.B. : A Manual of the aspergilli.
Ed. Williams and Vilkings, Baltimore, 1945.

(93) - TRAN VAN KY P., BIGUET J., FRUIT J. :
Localisation et fréquence des arcs des immunoélectrophorégrammes produits par le sérum des malades atteints de mycétones aspergillaires appliqués contre l'antigène Aspergillus fumigatus.
Rev. d'Immunologie, 1966, 30, 1-2, 13-20.

(94) - TRAN VAN KY P., BIGUET J., VAUCELLE T. :
Etude d'une fraction antigénique d'Aspergillus fumigatus support d'une activité catalasique.

Rev. d'Immun., 1968, 32, 37-52.

(95) - TRAN VAN KY P., HAVEZ R., BIGUET J., LEYS J.C. :
Localisation comparée des précipitines anti-Aspergillus fumigatus dans les globulines immunes du sérum des lapins hyper-immunisés et des maladies atteints d'Aspergillome pulmonaire.

Ann. Inst. Pasteur, 1966, 110, 86-98.

(96) - TRAN VAN KY P., URIEL J., ROSE F. :
Caractérisation de types d'activités enzymatiques dans des extraits antigéniques d'Aspergillus fumigatus après électrophorèse et immunoélectrophorèse en agarose.

Ann. Inst. Pasteur, 1966, 111, 161-170.

(97) - TURIAF J. : Inscriptions radiographiques de la sarcoïdose pulmonaire.

Rev. Tub. Pneum., 1964, 28, 671-996.

(98) - VIRCHOW W. : Beiträge zur Lehre von dem beim Menschen vorkommenden pflanzlichen Parasiten.

Virchow's Arch., 1856, 9, 557-596.

(99) - VOISIN C., BIGUET J., TRAN VAN KY P., SCHOULLER A., SERGEANT Y.H., GERNEZ-RIEUX C. :
Aspergilloses latentes et tuberculose pulmonaire chronique. (Intérêt de la recherche systématique des précipitines sériques spécifiques chez les tuberculeux cavitaires au long cours).

Rev. Tub. Pneum., 1964, 28, 12, 1311-1317.

(100) - VOISIN C., SEGRETAIN G., RENAULT P., DROUHET E. :
La surinfection aspergillaire chez les tuberculeux pulmonaires traités. Techniques du diagnostic mycologique de l'infection aspergillaire.

Rev. Tub. Pneum., 1965, 29, 7/8, 705-710.

Vu, Strasbourg, le 5 Décembre 1968.
Le Président du Jury,
R.SARTORY.

Vu et approuvé :
Strasbourg, le 5 Décembre 1968.
Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,
M.HASSELMANN.

Vu et permis d'imprimer :
Strasbourg, le 5 Décembre 1968.
Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,
M.HASSELMANN.

TABLE DES MATIERES

	Page
PLAN GENERAL	1
INTRODUCTION	3
PREMIERE PARTIE :	5
HISTORIQUE	7
CARACTERES MYCOLOGIQUES DE L'AGENT PATHOGENE . .	10
ETIO-PATHOGENIE DE L'AFFECTION	14
LES ASPERGILLOSES	19
DEUXIEME PARTIE :	37
RAPPEL DE QUELQUES NOTIONS D'IMMUNOLOGIE	39
DESCRIPTION DES METHODES UTILISEES	47
ANALYSE DES RESULTATS OBTENUS PAR CES METHODES .	54
TROISIEME PARTIE :	71
RESULTATS PERSONNELS	73
INTERPRETATION DES RESULTATS	78
ETUDE DETAILLEE DES CAS D'ASPERGILLOME	83
CONCLUSION	99
BIBLIOGRAPHIE	101